

Efeito do pH final sobre a qualidade da carne de bovinos da raça Nelore

Cátia Arruda Martins

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Zootécnica – Produção Animal

Orientadores: Prof. Saulo da Luz e Silva

Prof. José Pedro Cardoso Lemos

Júri:

Presidente: Doutora Luísa Almeida Lima Falcão e Cunha, Professora Associada com Agragação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Vogais: Doutor José Pedro da Costa Cardoso de Lemos, Professor Associado da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, orientador; Doutora Teresa de Jesus da Silva Matos, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Ao meu querido avô, Manuel Martins, pelo exemplo de força e vontade de lutar pela vida. Saudades eterna.... (In memorian);

À minha linda avó, Augusta Martins, que mesmo tendo de suportar a minha ausência esteve ao meu lado dando-me o apoio necessário e rezando por mim;

Aos meus pais, que sempre investiram na minha educação e me proporcionaram a realização de mais esta etapa;

À minha Madrinha/Titia, à minha prima Raquel Martins e ao meu tio Nuno Alves, que mesmo longe se fizeram presentes nos momentos importantes.

- A vocês dedico este trabalho -

Agradecimentos

Aos meus pais, avós, madrinha, prima Raquel e tio Nuno, por todo o amor e apoio.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo
- Campus de Pirassununga, pelo acolhimento, conhecimento e oportunidades.

Ao Programa de Bolsas de Intercâmbio do Santander-Totta, pela oportunidade de intercâmbio.

À professora Luísa Falcão e ao professor Bernardo Pacheco (In memorian), pelo apoio e recomendação para a realização do intercâmbio.

Ao Professor Saulo da Luz e Silva da Universidade de São Paulo, por ter aceite ser meu orientador, mesmo sem me conhecer e sendo eu oriunda de outro país.

À minha co-orientadora Dra. Rosana Corte da USP, por todo o apoio, orientação valiosa, amizade e paciência.

Ao Professor José Pedro Lemos da Faculdade de Medicina Veterinária, que aceitou ser meu orientador.

Aos meus colegas de trabalho Dan e Juan, por toda a ajuda, apoio e amizade.

À equipe de trabalho do Laboratório de Avaliação Animal e Qualidade da Carne, Henrique, Gi, Mariane, Tam Tam, Salsicha, Mancha e Ju.

Às meninas da República Coronelas que me acolheram, fizeram-me sentir em casa e foram a minha família nesse país, Lego, Kbok, Dona, KitKat, Mixera, Zona e Tico.

À turma de zootecnia XXXV por me terem acolhido tão bem e pela amizade de todos vocês.

Aos membros da “Carreta Furacão”, Marina, Pau, Polenta e Yuri pela amizade, companhia e brincadeiras.

Aos meus amigos e colegas do Instituto Superior de Agronomia, que me acompanharam na Licenciatura e/ou no Mestrado que passaram por todas as provas desta vida académica comigo, Daniel, Filipa, Tatiana, Cristina, Rita e Luís.

A todas as pessoas que me apoiaram e me ajudaram, mas que não foram mencionadas.

- A todos os meus sinceros agradecimentos -

Resumo

O pH final (pH_f) no músculo *post-mortem* é amplamente utilizado como um indicador potencial de tenrura e é um fator importante associado às características de qualidade da carne. O Brasil é o líder mundial nas exportações de carne bovina, porém não são conhecidos os valores de pH final do músculo e o seu impacto na qualidade da carne de animais machos inteiros da raça Nelore. Baseando-se no exposto, definiu-se como objetivo deste trabalho analisar os efeitos do pH final na qualidade da carne em parâmetros como perdas por cozedura, lípidos totais, cor, tenrura, comprimento do sarcômero e oxidação lipídica da carne com 7 dias de maturação. O estudo foi realizado em 49 animais separados em três intervalos de pH final: $\text{pH}_f < 5,7$ (normal); $5,8 < \text{pH}_f < 6,0$ (intermédio) e $\text{pH}_f > 6,1$ (alto). Carnes pertencentes ao grupo de pH final alto apresentaram menor perdas por cozedura e menor força de corte ($P < 0,05$), comparativamente aos outros grupos do estudo, o que indica serem carnes mais tenras. Verificou-se ainda que a carne com o pH final intermédio apresentou uma menor tenrura. Não foram observadas diferenças significativas no comprimento do sarcômero e no valor de lípidos totais ($P > 0,05$). Observou-se que a um pH final alto os valores de cor (L , a^* e b^*) são menores, sendo uma carne mais escura e que o maior valor de TBARS se observa para pH final normal ($P_{\text{pH}} < 0,05$). Verificou-se que os valores de TBARS aumentam com o aumento do tempo de prateleira e que a carne tende a escurecer ($P_{\text{TEMPO}} < 0,05$), o que seria de esperar pois nestas condições ocorre uma permanente exposição à luz e ao oxigénio, que são fatores catalisadores da oxidação lipídica.

Palavras-chave: Qualidade da Carne; pH final; Tenrura; Cor; Oxidação Lipídica.

Abstract

The final pH (pH_f) in the postmortem muscle is widely used as a potential indicator of tenderness and is an important factor associated with the quality characteristics of the meat. Brazil is the world leader in beef exports, but the final pH values of the muscle and its impact on the quality of the meat of young bulls of the Nelore breed are not known. Based on the above, the objective of this work was to analyze the effects of final pH on meat quality in parameters such as cooking losses, total lipids, color, tenderness, sarcomere length and lipid oxidation of meat with 7 days of maturation. The study was performed on 49 animals separated into three final pH ranges: pH_f <5.7 (normal); 5.8 <pH_f> 6.0 (intermediate) and pH_f> 6.1 (high). Meat belonging to the high final pH group presented lower losses by cooking and lower shear strength ($P < 0.05$), compared to the other groups in the study, indicating that they were tender meats. Also meat belonging to the intermediate final pH group was the least tender. No significant differences were observed in sarcomere length and total lipid value ($P > 0.05$). It was observed that at a high final pH the color values (L, a * and b *) are smaller, being a darker meat. It was found that TBARS values increase with increasing time on the display and that the meat tends to darker ($P_{\text{TEMPO}} < 0.05$), which would be expected because under these conditions a permanent exposure to light and oxygen occurs, which are factors catalysts of lipid oxidation.

Keywords: Meat Quality; Final pH; Tenderness; Colour; Lipid Oxidation.

Índice

Agradecimentos.....	3
Resumo	5
Abstract	6
Lista de Figuras	9
Lista de Tabelas	10
Lista de Abreviaturas.....	11
1. Introdução	12
2. Revisão Bibliográfica.....	14
2.1. Raça Nelore.....	14
2.2. Qualidade da Carne	15
2.3. Características Relacionadas com a Qualidade da Carne	17
2.3.1. pH.....	17
2.3.2. Tenrura.....	21
2.3.3. Cor	25
2.3.4. Capacidade de retenção de água.....	29
2.3.5. Oxidação Lipídica	30
3. Material e Métodos.....	33
3.1. Localização.....	33
3.2. Animais e Tratamento.....	33
3.3. Abate	34
3.4. Medição do pH.....	34
3.5. Recolha das Amostras.....	35
3.6. Perda de Peso por Cozedura	35
3.7. Força de Corte	36
3.8. Lípidos Totais.....	36
3.9. Comprimento do Sarcómero.....	36
3.10. Cor e Oxidação Lipídica	37
3.11. Oxidação Lipídica	37
3.12. Análise Estatística	38

4. Resultados e Discussão.....	39
4.1. Perda de Peso por Cozedura	39
4.2. Força de Corte	41
4.3. Lípidos Totais.....	42
4.4. Comprimento do Sarcómero.....	43
4.5. Cor	44
4.5.1. Valor de L*	44
4.5.2. Valores de a* e b*	45
4.6. Perdas de Peso por Exsudação.....	46
4.7. Oxidação Lipídica	47
5. Conclusão	50
Referências Bibliográficas	51
Anexos	67
Anexo 1 - Extracção dos Lípidos Totais da Carne.....	67
Anexo 2 - Comprimento do Sarcómero.....	68
Anexo 3 - Oxidação de Lípidos da Carne.....	70

Lista de Figuras

Figura 1 - Curva normal de pH esperada no músculo <i>Longissimus dorsi</i> de bovinos durante as primeiras 24 horas <i>post-mortem</i> . Fonte - Adaptado de WHIPPLE et al. 1990).....	18
Figura 2 - Reações da mioglobina com o oxigênio. Fonte – GUILHERME et al., 2008.	26
Figura 3 - Influência do pH final na perda por cozedura no músculo <i>Longissimus dorsi</i> de animais machos inteiros da raça Nelore.....	39
Figura 4 - Influência do pH final na força de corte no músculo <i>Longissimus dorsi</i> de animais machos inteiros da raça Nelore.	41
Figura 5 - Influência do pH final (esquerda) e do tempo de prateleira (direita) no valor de L* no músculo <i>Longissimus dorsi</i> de animais machos inteiros da raça Nelore.....	44
Figura 6 - Interação entre pH final e o tempo de prateleira no valor de a* (esquerda) e no valor de b* (direita) no músculo <i>Longissimus dorsi</i> de animais machos inteiros da raça Nelore.	45
Figura 7 - Influência do tempo de prateleira nas perdas por exsudação no músculo <i>Longissimus dorsi</i> de animais machos inteiros da raça Nelore.....	47
Figura 8 - Influência do pH final (esquerda) e do tempo de prateleira (direita) no valor de TBARS no músculo <i>Longissimus dorsi</i> de animais machos inteiros da raça Nelore.....	47

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Valores de Perda de Peso por Cozedura, Força de Corte, Lípidos Totais e Comprimento do Sarcómero, do músculo <i>Longissimus dorsi</i> de bovinos machos inteiros em diferentes faixas de pH final.	43
Tabela 2 - Valores de cor (L*, a*, b*), perda por exsudação e TBARS do músculo <i>Longissimus dorsi</i> de bovinos machos inteiros em diferentes faixas de pH final e em diferente tempo de prateleira.	49

Lista de Abreviaturas

a* – Intensidade de vermelho

b* – Intensidade de amarelo

L* – Luminosidade

P_i – Peso inicial

P_f – Peso final

kgf – Kilograma força

pH_f – pH final medido 24h após o abate

DFD – Dark, firm and dry

CIE – Comissão Internacional de Iluminação

TBARS – Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

MDA – Malonaldeído

SP – São Paulo

USP – Universidade de São Paulo

FZEA – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos

1. Introdução

Devido à posição que o Brasil ocupa atualmente no mercado mundial de exportações de carne, é necessário que os produtores se preocupem em melhorar a qualidade do produto oferecido. O padrão de qualidade procurado pelo consumidor pode ser definido como a interação entre a satisfação do consumidor e as características do produto (BARCELLOS, 2007), como o sabor, a suculência, a cor e tenrura, sendo esta última característica a de maior peso na decisão de compra, mas também a de maior variabilidade na produção de carne de bovino (DELGADO et al., 2006; MALTIN et al., 2003).

Neste contexto, um dos fatores que pode ser utilizado como preditor da qualidade da carne é o valor do pH final (pH_{24}) (HUFF-LONERGAN; et al., 2010; PULFORD et al., 2009; YOUNG et al., 2004), dada a sua influência nas características organolépticas da carne.

O processo de glicólise anaeróbica *post-mortem* ocorre devido à metabolização do glicogénio presente no músculo para suportar a geração de ATP e continuar a atividade muscular. O metabolismo anaeróbico é acompanhado da produção e acumulação do lactato no músculo e consequente diminuição do pH (HUFF LONERGAN et al., 2010). As reservas de glicogénio muscular são, portanto, importantes para a descida adequada do pH *post-mortem*. Altos valores de pH final resultam em carne de cor escura, firme e seca descrita como “*dark cutting*” ou DFD (*dark, firm and dry*) (MALTIN et al., 2003). Segundo Dransfield (1981), a carne DFD tende a ser mais tenra, porém, outro estudo relata que a carne DFD tem maior valor de força de corte e menor palatabilidade quando comparada com carnes com valores de pH normais (WULF et al., 2002).

Por outro lado, a carne DFD é mais suscetível à deterioração, pois seu pH alto e a maior quantidade de água retida na mesma aumentam a possibilidade de crescimento microbiano, diminuindo a sua vida útil, além de incorrer em riscos para os consumidores (SILVA et al., 1999). Outra característica da carne DFD é a cor escura, levando à sua rejeição por parte dos consumidores, causando grandes perdas para indústria da carne.

Desta forma, é importante analisar os efeitos do pH final sobre a qualidade da carne de bovinos Nelore, visando fornecer informações importantes para a indústria de carne bovina para que esta possa realizar ações de forma reduzir as perdas económicas relacionadas com este fator.

Assim sendo, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o efeito do pH final (pH_f), medidos às 24 horas após o abate, ($\text{pH}_f < 5,7$, $5,8 < \text{pH}_f < 6,0$ e $\text{pH}_f > 6,1$) sobre

algumas características da qualidade da carne (a força de corte, a cor, o comprimento do sarcômero, as perdas por cozedura, as perdas por exsudação, os lípidos totais e o valor de TBARS.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Raça Nelore

A história descreve que a primeira aparição do Nelore no Brasil terá ocorrido em 1868 quando um navio Português, com destino a Inglaterra, ancorou em Salvador com um casal de animais desta raça a bordo. Os animais teriam sido comercializados, permanecendo no país (SANTIAGO, 1985).

De acordo com Lima (1989), a raça Nelore multiplicou-se a uma velocidade espantosa a partir dos núcleos que se formaram logo após as importações da Índia. A raça tem sido melhorada geneticamente sendo exclusivamente destinada para a produção de carne, embora na sua origem tenha sido utilizada para exploração leiteira (SANTIAGO, 1987).

Esta expansão foi uma consequência dos elevados índices de desempenhos reprodutivos e produtivos alcançados pelo Nelore em climas tropicais (OLIVEIRA et al; 2002), tornando-se assim a raça de maior importância no sistema de produção de carne brasileira devido às suas características como a adaptabilidade ao ambiente tropical, a resistência aos parasitas, a rusticidade e a produtividade (SANTIAGO, 1987).

Atualmente, o Brasil possui o maior rebanho comercial bovino do mundo, com cerca de 213 milhões de cabeças (USDA, 2015), estimando-se que desse total, mais de 80% seja constituído por bovinos com genótipo *Bos taurus indicus*, sendo a maior parte dessa contribuição da raça Nelore (ABIEC, 2015). São animais criados quase exclusivamente em regime extensivo de pastoreio, e por esse motivo são animais que quando abatidos têm um baixo rendimento de carcaça, pouca cobertura de gordura e uma carne pouco marmoreada, o que pode comprometer a qualidades organoléptica da carne.

2.2. Qualidade da Carne

O total da produção brasileira de carne bovina no ano 2015 foi de 9,4 mil milhões de toneladas, sendo 77% deste valor, carne *in natura* (USDA, 2015), posicionando este país como o segundo exportador de carne do mundo, obtendo receitas de 7,2 mil milhões de dólares com mais de 1,56 milhões de toneladas comercializadas para mais de 150 países (ABIEC, 2015, USDA 2015).

Devido à elevada exigência dos mercados importadores, os produtores de carne brasileiros têm que se adequar e procurar uma produção mais sustentável, de qualidade consistente e que obedeça a todos os princípios impostos pelos compradores.

No Brasil, devido à deficiência de um sistema de tipificação das carcaças, não existem muitos incentivos ao produtor para a produção de carcaças diferenciadas e, portanto, observa-se uma grande inconsistência nos animais abatidos. Geralmente, a maior parte do rebanho brasileiro é composto por animais zebuínos, puros ou cruzados, criados em sistemas extensivos, com pouca ou nenhuma suplementação, o que leva a uma idade de abate avançada (30 a 36 meses) e a uma produção de carcaças heterogêneas e de baixa qualidade. Além da falta de um sistema de classificação, a maior parte da indústria paga somente pelo peso de carcaça quente, sem considerar as características quantitativas e qualitativas da carne, como o nível de acabamento, rendimento de desmancha, entre outras. É importante ressaltar porém que já existem iniciativas, por parte de algumas indústrias, de considerar a idade do animal e a espessura de gordura subcutânea como fatores de desconto ou valorização das carcaças.

O aumento das exportações gerou no mercado interno um maior interesse pela qualidade dos produtos, o que tem levado a indústria a procurar produtores que forneçam animais mais jovens, com melhor acabamento e que tenham, potencialmente, matéria-prima de melhor qualidade.

Devido à falta de conhecimento e informação sobre a “qualidade da carne”, a maioria dos consumidores faz a escolha no momento da compra baseado em experiências e expectativas pessoais, no que se refere aos atributos da qualidade tais como a aparência, o valor nutritivo e os aspetos sanitários, as características organoléticas, para além,

obviamente, do preço criteriosamente estabelecido pelo justo valor correspondente a esses atributos (FELÍCIO, 1997; LUCHIARI FILHO, 2000).

Esses atributos são, por princípio, a cor do músculo e da gordura de cobertura, seguidas por aspetos envolvidos no processamento como perda de líquidos no descongelamento e na cozedura, mantendo assim as características com influência na palatabilidade, tais a suculência e principalmente a tenrura. Sendo esta última característica a de maior influência na decisão da compra por parte do consumidor, mas também a de maior nível de reclamação pela sua elevada variabilidade (MALTIN et al., 2003).

De modo geral, considera-se um produto de qualidade aquele que atende perfeitamente, de forma confiável, acessível, segura e no momento em que for solicitado, às necessidades e aos anseios dos consumidores (TUBINO, 1997).

O conceito de “qualidade da carne” é muito mais amplo e envolve diversos aspetos que podem influenciar o produto final. Esta pode depender do maneio do animal antes do abate e das condições do processamento que serão aplicados durante as primeiras 24 horas após o abate, sendo designados como fatores *ante-mortem* e *post-mortem* (LUCHIARI FILHO, 2000).

No que respeita aos fatores *ante-mortem*, encontram-se fatores relacionados ao genótipo dos animais e às condições ambientais em que eles se desenvolveram, além da alimentação, idade ao abate, sexo e efeito do stresse (FELÍCIO, 1993). Algumas medidas de maneio dos animais no período que antecede o abate, como evitar a mistura de animais de diferentes sexos, idades e categorias, transportá-los nas horas mais frescas do dia e não utilizar choques elétricos, entre outras, podem favorecer uma qualidade adequada da carne (LUCHIARI FILHO, 2000). A falta de cuidado nos aspetos citados acima pode implicar directamente problemas qualitativos desenvolvidos na fase *post-mortem*.

Um exemplo que se pode referir é a influência de fatores pré-abate na dinâmica da descida do pH muscular que ocorre na fase pós-abate (FELÍCIO, 1993). Após a morte, o pH tem extrema importância na transformação do músculo em carne, com efeito sobre a qualidade do produto final (PARDI et al., 1994). O pH exerce ainda influência sobre várias características, como na capacidade de retenção de água, perda de peso por cozedura e força de corte. Os bovinos, quando submetidos a stresse pré-abate, esgotam parcial ou totalmente as suas reservas de glicogénio, não havendo por isso uma descida normal do pH, o que pode originar problemas de carne “escura, firme e seca” (*dark, firm, dry* ou DFD) (FELÍCIO, 1993).

A carcaça de um bovino é majoritariamente constituída por músculos, que serão convertidos em carne após as transformações químicas e físicas no *rigor mortis* e maturação (LUCHIARI FILHO, 2000). Sendo o músculo uma estrutura altamente organizada e complexa, é de esperar que as propriedades da carne sejam suscetíveis de serem determinadas sob diferentes níveis, relacionadas com as suas características físico-químicas. Após o abate, uma série de modificações bioquímicas e estruturais ocorrem para desencadear o processo que pode ser chamado de “conversão do músculo em carne”, e a sequência destas transformações no músculo é o centro do desenvolvimento das práticas pós-abate, que poderão ser utilizadas para aperfeiçoar a qualidade da carne (MALTIN et al., 2003), sendo que a qualidade dessa carne é um dos fatores mais importantes para a sua comercialização.

Deste modo, para a garantia e/ou melhoria da qualidade da carne brasileira, será necessário enfrentar desafios, atendendo às exigências dos criadores, superar expectativas e associar atributos de qualidade valorizados pelo consumidor. Por isso, existe a necessidade de conhecimentos e atuação sistemática sobre os fatores que influenciam a qualidade da carne, principalmente a cor e a tenrura.

2.3. Características Relacionadas com a Qualidade da Carne

2.3.1. pH

No abate é efetuada a sangria do animal, o que leva à interrupção da circulação sanguínea e, por consequência, o transporte de glicose e oxigênio. Porém, devido ao músculo ainda possuir reservas de energia na forma de glicogénio, pode-se manter ainda por algum tempo em estado similar ao que possuía em vida. Na tentativa do organismo para manter essa homeostase, ocorre a degradação do glicogénio muscular, num processo anaeróbico, com a formação de ácido láctico, que se acumula no músculo reduzindo assim o pH muscular (MALTIN et al., 2003).

A redução do pH, juntamente com outras mudanças bioquímicas, e a descida da temperatura, durante o arrefecimento das carcaças, levam ao desenvolvimento do *rigor mortis*. Este fenómeno, também chamado de rigidez cadavérica, aparece após o abate do animal quando os músculos da carcaça se tornam rígidos. O período para o estabelecimento do *rigor mortis* é variável em função da quantidade de reservas de energia (glicogénio) que o animal possuía antes do abate, ou seja, quanto menos energia acumulada, mais rápida será a diminuição dos valores de pH e mais rápido o estabelecimento do *rigor mortis* (HUFF-LONERGAN, et al., 2010; LUCHIARI FILHO, 2000).

Nos bovinos, a glicólise desenvolve-se lentamente após o abate, sendo que o pH inicial (imediatamente após o abate) em torno de 7,0 cai para 6,4 – 6,8 após 5 horas e para 5,5 – 5,9 após 24 horas (pH final) (PEARCE et al., 2011; GARRIDO *et al.*, 2005), sendo esta praticamente linear em relação ao tempo (Figura 1).

Contudo, quando ocorre uma depleção muscular de glicogénio, o pH permanece acima de 6,1 após 24 h do abate, resultando numa carne de coloração muito escura e de superfície exposta muito seca, uma vez que a água está fortemente ligada às proteínas miofibrilhares, tendo-se assim o indício de uma carne tipo DFD (VAZ; RESTLE, 2000).

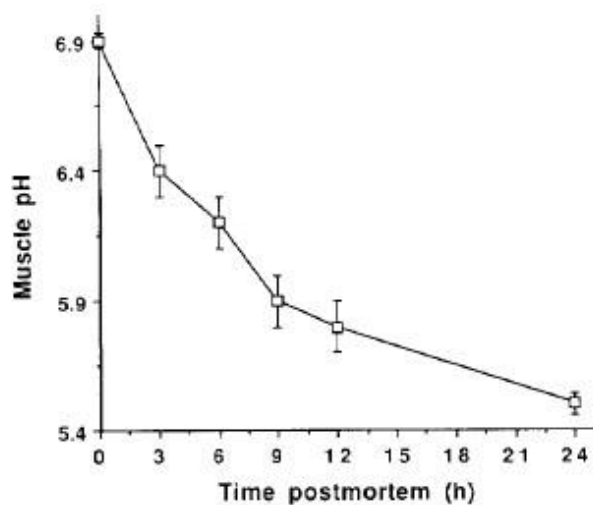


Figura 1 - Curva normal de pH esperada no músculo *Longissimus dorsi* de bovinos durante as primeiras 24 horas post-mortem. Fonte - Adaptado de WHIPPLE et al. 1990).

O pH final elevado da carne, como consequência de depleção das reservas de glicogénio muscular no período pré-abate, afecta intensamente a qualidade da carne (SILVA, et al; 1999). Vários fatores têm sido mencionados como responsáveis pela depleção do glicogénio muscular: sexo, a espécie, a raça, a idade, a alimentação, a forma de transporte dos animais para o matadouro, mistura de diferentes lotes no matadouro, fatores

climáticos, condições patológicas, fatores genéticos e stresse pré-abate (AZEVEDO, 2010; McGEEHIN *et al.*, 2001). Na prática, estes fatores provocam uma redução das reservas de glicogénio no músculo, com o consequente aumento do pH final se o animal for abatido antes que as reservas energéticas sejam restabelecidas. (PURCHAS; AUNGSUPAKORN, 1993).

2.3.1.1. Carne “Dark, Firm and Dry”

A descida do pH no músculo durante a transformação deste em carne é um fator extremamente importante que pode levar a alterações significativas na qualidade da carne, particularmente na carne de bovino, visto umas das principais alterações observadas, caracterizada por altos valores de pH 24 horas *post-mortem*, ser a carne DFD (*dark, firm and dry*) ou “*dark cutting*”, que consiste em carne de cor escura, firme e seca (MALTIN *et al.*, 2003).

O valor de pH final para a classificação como carne DFD é tradicionalmente valores acima de 6,0 (BRISKEY, 1964), mas alguns autores argumentam ser tão baixo quanto 5,87 (PAGE *et al.*, 2001). Recentemente essa classificação tem sofrido alterações para valores de pH final superiores a 6,2 (VAZ e RESTLE, 2000; ROÇA, 2013)

Historicamente, a carne DFD tem sido atribuída ao baixo conteúdo de glicogénio muscular no momento do abate, geralmente devido ao stresse. O stresse antes do abate resulta muitas vezes numa relação linear negativa entre pH final e pré-abate de glicogénio muscular, especialmente quando o conteúdo de glicogénio muscular está entre 0 e 53 $\mu\text{mol} / \text{g}$ de glicogénio (IMMONEN; PUOLANNE, 2000). Portanto, o conteúdo de glicogénio muscular pós-morte precoce é útil para prever o declínio *post-mortem* do pH.

As carnes com estas características são diferentes por exibirem alta capacidade de retenção de água, superfície seca, firme e com cor vermelha escura quando comparada com carnes normais (VILJOEN *et al.*, 2002). Além disso, carnes DFD apresentam maior variação de tenrura (WULF *et al.*, 2002). Segundo Dransfield (1981), a carne DFD tende a ser mais tenra do que a carne normal, porém, outro estudo relata que a carne DFD tem

maior valor de força de corte e menos palatabilidade do que carnes normais (WULF et al., 2002).

Vários fatores *ante-mortem* podem levar a redução das reservas de glicogénio no músculo. De entre eles, destacam-se a alimentação inadequada, longo período de jejum, exaustão física e o stresse pré-abate (LAWRIE, 2005).

O principal fator que afeta as reservas de glicogénio é o stresse pré-abate. O stresse pode ser uma exaustão física, psicológica ou ambos (IMMONEN et al., 2000), sob o qual o organismo reage com reações fisiológicas e mudanças comportamentais para restabelecer a homeostase (FERGUSON; WARNER, 2008).

Em bovinos que estão descansados e não expostos ao stresse, os níveis de glicogénio muscular serão de 0,8% a 1,0% antes da morte. No entanto, animais expostos a várias formas de stresse pré-abate prolongado esgotam significativamente as suas reservas de glicogénio. Num estado de escassez de glicogénio os animais terão menos do que cerca de 0,6%, o que vai dificultar a descida normal do pH *post-mortem*. Músculos com um pH pós-rigor superior a 5,9 geralmente desenvolvem algumas características de *dark-cutting* (MILLER, 2007).

Os fatores de stresse nos animais incluem o tipo biológico, a origem geográfica, o comportamento de monta, as condições ambientais, a temperatura, a humidade relativa, o vento, a mistura de animais desconhecidos e o transporte dos animais. Um ou uma variedade de fatores acima pode contribuir para o desenvolvimento de carne DFD.

Talvez entre estes fatores o mais comum seja o comportamento de monta e a mistura de animais desconhecidos, dado que os animais de diferentes origens tendem a "lutar" para estabelecer uma nova ordem. Consequentemente, podemos afirmar que a mistura de animais antes do abate aumenta significativamente as possibilidades de carne DFD (COOK, 1998).

De acordo com a *National Beef Quality Audit* em 2011 (MOORE et al., 2012), 3,2% dos bovinos amostrados foram determinados como sendo DFD, o que é um aumento em relação a 2000 (2,3%) e 2005 (1,9%) (McKENNA et al., 2002; GARCIA et al., 2008). A condição de carne DFD implica grandes perdas económicas para a indústria devido à redução da vida útil da carne e da sua palatabilidade (SILVA et al., 1999), além da cor escura, geralmente indesejável para o consumidor (VILJOEN et al., 2002).

2.3.2. Tenrura

Lawrie (1977) e Szczesniak (1986) definiram tenrura, ou textura de um alimento, como a manifestação dos seus elementos estruturais à aparência, à mastigação e resistência à aplicação de uma força.

Segundo Luchiari Filho e Moura (1997), a textura é o primeiro atributo de qualidade avaliado quando se mencionam os aspetos qualitativos procurados na produção da carne bovina. Coró et al. (1999) afirmaram que a textura é determinante na qualidade e provavelmente a mais importante característica sensorial quando se consome carne, sendo este o fator determinante na aceitação da carne bovina por parte dos consumidores, considerado o atributo mais importante após a compra (MORGAN et al., 1991; BOLEMAN et al., 1997; COSTA et al., 2002).

Porém, durante muitos anos produziu-se e consumiu-se carne sem preocupação com as funções biológicas do tecido muscular no animal vivo e o quanto isto influenciava a sua qualidade. Somente com a compreensão dos eventos bioquímicos que ocorrem no tecido muscular vivo foi possível perceber que a carne, sendo uma organização complexa de músculo, tecido conjuntivo e gordura, é o resultado final de uma série de reações físico-químicas que ocorrem nestes tecidos a partir do abate, ou mesmo momentos antes, que determinam a qualidade final do produto (JUDGE et al., 1989).

A textura pode ser explicada pela presença das proteínas do tecido conjuntivo e das miofibrilhas. As primeiras são responsáveis pelo aumento da dureza, com o avanço da idade dos animais, devido à formação de ligações cruzadas (covalentes) entre moléculas adjacentes de colagénio, o que confere aumento gradual da estabilidade e resistência a ataques químicos e tratamento térmico. Já a textura promovida pelos componentes do sistema proteico miofibrilhar depende do processamento da carcaça e da carne (KUBOTA et al., 1999) após o abate.

O processo de aumento da tenrura da carne não decorre de maneira igual em todos os animais, mesmo nos da mesma espécie. Esta elevada variabilidade no processo tem como consequência resultados inconsistentes na tenrura da carne quando é apreciada pelos consumidores (KOOHMARAIE et al., 1996). Estudos conduzidos por Koohmaraie et al. (1996) colocaram a hipótese de que a diferença na taxa e extensão da maturação *post mortem* é responsável pela variação na tenrura da carne.

A melhoria da tenrura da carne ao longo da maturação tem sido atribuída à atividade de enzimas proteolíticas no músculo, especialmente as calpaínas, que desempenham um papel chave na degradação de algumas proteínas musculares específicas (BELTRAN et al., 1997; Huff-Lonergan et al., 1996; Marino et al., 2013). Após o abate, ocorre a interação da miosina e actina, através de ligações que cessam com o esgotamento das reservas de ATP (HEDRICK et al., 1994). Atualmente pode-se considerar que existem níveis intermédios de interações miosina-actina e que o aumento da tenrura da carne ao longo da maturação é consequência da ação de enzimas proteolíticas, especificamente das calpaínas, cuja ação sobre as proteínas miofibrilhares se inicia no momento do abate do animal (KOOHMARAIE, 1996; GOLL et al., 1992).

O aumento da tenrura da carne pode ser atribuído a um processo de duas fases: enfraquecimento da estrutura proteica das miofibrilhas e alterações nos componentes do tecido conjuntivo da carne (NISHIMURA et al., 1998, WARRIS, 2000). A primeira, mais rápida, onde ocorrem mudanças nos componentes miofibrilhares consequência da proteólise, e uma segunda, mais lenta, onde ocorre o enfraquecimento estrutural do tecido conjuntivo intramuscular. No entanto, o processo proteolítico que ocorre durante a maturação não tem qualquer ação sobre o complexo actinmiosina, pois os filamentos finos e grossos continuam firmemente ligados entre si.

A tenrura da carne é afetada por inúmeros fatores, *ante* e *post mortem*. Como fatores *ante-mortem* destacam-se a genética, a raça, o sexo, o stresse pré-abate, a idade, a nutrição, o exercício, a quantidade e a solubilidade do tecido conjuntivo, o comprimento dos sarcómeros (ROÇA, 2000; HEDRICK et al., 1994), assim como a quantidade e solubilidade do tecido conjuntivo (PURSLOW, 2005).

Os fatores *post mortem* são aqueles relacionados aos processos durante e após o abate como a utilização de estimulação elétrica, arrefecimento da carcaça, estabelecimento do *rigor mortis*, pH final, potencial proteolítico e degradação miofibrilhar durante o processo de maturação, aplicação de substâncias químicas exógenas (cálcio, enzimas) e o aumento da tenrura por meios mecânicos (LOMIWES et al., 2014; PEARCE et al., 2011). O tipo tratamento térmico (temperatura e duração) a que a carne é sujeita também afeta consideravelmente a sua tenrura (YANCEY et al., 2011).

Alguns autores relataram que a tenrura tem uma relação linear com o pH final na carne bovina (SILVA, et al., 1999; LI et al., 2014), enquanto outros verificaram maior tenrura na carne com pH final baixo e alto do que em carne de pH final intermédio (WATANABE et

al., 1996; JELENIKOVA, et al., 2008; PULFORD et al., 2008; PURCHAS, 1990; PURCHAS, AUNGSUPAKORN, 1993). Um estudo recente relatou que a carne mais dura ocorreu em amostras com pH final intermédio na faixa de 5,8 a 6,1 (LOMIWES, et al., 2014).

De acordo com Yu e Lee (1986), quando o pH final se encontra próximo da neutralidade há uma maior actividade de enzimas proteolíticas, calpaínas, resultando assim numa importante relação entre pH e tenrura.

Dransfield (1981) e Purchas (1990) indicaram que à medida que o pH aumenta, a estrutura das proteínas torna-se mais aberta, permitindo maior permeabilidade à água no interior das miofibrilha e menos componentes estruturais numa secção transversal. Menos componentes estruturais presentes numa secção transversal exigem menos força de corte e, por conseguinte, aumenta a tenrura da carne. No entanto, esta teoria não explica o endurecimento que ocorre a um pH final intermediário. É provável que mais do que um fator contribua para os valores de força de corte mais elevados a pH final intermediário, tal como a combinação de pH e da temperatura necessária para a libertação de cálcio suficiente no sarcoplasma para ativação das calpaínas no músculo *pós-mortem* (KOOHMARAIE, 1992).

O stresse pré-abate, decorrente de problemas relacionados com o manejo no transporte e/ou na espera na abegoaria do matadouro até o momento da insensibilização, gera alterações na fisiologia muscular, afetando o processo de transformação do músculo em carne e, consequentemente, a tenrura. Como já citado anteriormente, o stresse causa depleção das reservas de glicogénio, interferindo na descida de pH e causando carnes DFD (IMMONEN et al., 2000). Essa carne apresenta alterações na capacidade de retenção de água. Apesar de a tenrura não ser diretamente afetada pela capacidade de retenção de água, quando esta interfere na suculência, muda a percepção do consumidor na hora da ingestão. A suculência pode estar relacionada à quantidade de gordura intramuscular e ao pH final da carne (LOMIWES,et al., 2014).

De acordo com Felício (1982), a tenrura da carne é definida em duas formas principais: tenrura quando se utilizam medidas físicas de resistência da carne cozinhada submetida à compressão ou ao corte, e tenrura sensorial, quando se utiliza a resistência encontrada na mastigação por provadores e/ou consumidores.

Existem várias formas de medir a tenrura da carne, quando se utiliza a resistência à mastigação detetada por provadores, tenrura sensorial, ou pode ser quantificada com o uso de aparelhos específicos, os texturómetros, quando se trata de medidas físicas da resistência da carne cozinhada. Neste processo as carnes são submetidas a compressão ou

corte e quanto maior a força necessária menor é a tenrura da carne (FELICIO, 1999). O grau de dureza encontrado na carne é o resultado da soma das contribuições dos componentes estruturais não degradados no processo de maturação, incluindo o tecido conjuntivo, comprimento do sarcômero, quantidade de gordura e água, aliados ainda aos componentes remanescentes que não sofreram ação das calpaínas (DRANSFIELD, 1994).

Para avaliar a tenrura da carne, um dos métodos mais utilizados denomina-se força de corte (HONIKEL, 1998). Este tem alta correlação com a satisfação dos consumidores e avalia a resistência da deformação ao corte de uma amostra ao aplicar uma força. Este método associado à classificação de carcaças apresenta alto potencial para prever a tenrura da carne (KOOHMARAIE et al., 2006).

Segundo Koohmaraie (1995) a inconsistência na tenrura da carne bovina, do ponto de vista do consumidor, é um dos maiores problemas que desafiam a indústria e a solução desse problema tem sido uma das principais preocupações da indústria da carne. Ainda de acordo com o mesmo autor, a inconsistência na tenrura da carne deve-se a uma combinação da falta de capacidade de produzir rotineiramente carne tenra e, talvez mais importante, falta de capacidade em identificar carcaças que produzam carne dura e classificá-las adequadamente.

2.3.2.1. Maturação

Koohmaraie e Gessink (2006) afirmaram que os consumidores pagam mais por produtos cárneos que possuam características de acordo com suas preferências. Visto que a baixa tenrura da carne é uma das causas mais comuns da sua rejeição, a maturação torna-se alternativa para aumentar a tenrura da carne.

De acordo com Judge et al. (1989) a maturação é uma modalidade de conservação, que consiste na manutenção das carcaças ou das peças de talho por um período de 15 a 21 dias, em temperatura acima do ponto de congelamento da carne, ou seja, ao redor de 2 °C. O processo de maturação tem sido utilizado em vários mercados, como no europeu, em que o tempo varia de 10 a 14 dias de maturação, ou no Brasil, em que o tempo de maturação dura entre 14 a 21 dias. Esta diferença no tempo de maturação está associada a fatores genéticos dos bovinos, já que a utilização de animais *Bos taurus* permite a utilização de

menor tempo de maturação devido à maior eficácia do processo de proteólise nestas raças (KEMP *et al.*, 2010).

Porém, a maturação é um fenómeno complexo que ocorre a partir da rigidez cadavérica, e que se prolonga durante o armazenamento, envolvendo um conjunto enzimático com destaque para as calpaínas (cálcio-dependentes) e a calpastatina (inibidora das calpaínas) (RUBENSAM *et al.*, 1998). Como já foi referido anteriormente, os animais *Bos indicus* apresentam uma elevada atividade da calpastatina, que é uma inibidora da calpaína, impedindo assim a sua ação proteolítica durante a maturação da carne.

2.3.3. Cor

No momento da compra pelo consumidor, o atributo que mais impressiona é a cor da carne (PAGE *et al.*, 2001). A cor vermelha da carne fresca é um atributo de qualidade importante, utilizado pelos consumidores para avaliar a sua frescura e salubridade, influenciando substancialmente a aceitabilidade e decisão de compra da carne e produtos cárneos (MANCINI, HUNT 2005). A cor da carne bovina mais aceitável pelos consumidores é vermelho cereja brilhante (LUCHIARI FILHO, 2000). Sendo assim, a cor desempenha um papel importante na comercialização da carne. A coloração mais escura inibe a compra, uma vez que o consumidor associa a cor escura a uma possível deterioração ou oriunda de animais mais velhos (VAZ; RESTLE, 2002; BRONDANI *et al.*, 2006). Também segundo Mancini e Hunt (2005), os consumidores julgam as alterações da cor da carne como um indicador de perda de frescura e inocuidade do produto.

A cor da carne *in natura* é dependente da concentração e do estado químico dos pigmentos do músculo (mioglobina e hemoglobina residual) sobre as características físicas da carne, como as propriedades de absorver e refletir a luz que estão relacionadas com o seu pH final (ABRIL *et al.*, 2001). O brilho da carne aumenta à medida que o músculo acidifica, dado que a contração das miofibrilhas expulsa a água da matriz proteica, o que faz com a reflexão da luz à superfície aumente (HULOT; OUHAYOUN, 1999).

De acordo com Pardi *et al.* (2001), numa situação de sangria bem realizada, a cor da carne é devida principalmente à mioglobina, pigmento dos músculos, sendo de 80 a 90% do pigmento total, e em menor grau à hemoglobina, pigmento do sangue, que se encontra

apenas em quantidades residuais. O teor de hemoglobina só influenciará a cor da carne se o processo de sangria for mal executado.

Segundo Brewer (2004), a mioglobina é uma metaloproteína, formada por um grupo heme e um polipeptídeo chamado globina. A função biológica da mioglobina consiste no armazenamento de oxigénio para utilização pelos tecidos vivos, que ocorre quando ela se encontra no seu estado reduzido (oximioglobina). Porém, em função de determinadas condições do ambiente, a mioglobina sofre alterações na sua estrutura, relacionadas ao estado de oxigenação e oxidação do átomo de ferro que se refletem diretamente na cor da carne fresca (INSAUSTI et al., 1999; KIM; HUNT, 2011).

A mioglobina pode ser encontrada em carnes vermelhas *in natura* em três formas: deoximioglobina, oximioglobina e metamioglobina (MANCINI; HUNT, 2005). A carne fresca, imediatamente após o corte na ausência de oxigénio (O_2), tem uma cor púrpura da deoximioglobina ou mioglobina reduzida que contém o ião ferro no seu estado ferroso (Fe^{+2}), e quw se caracteriza pela ausência de ligante do grupo heme.

Após a exposição da carne fresca ao oxigénio, a mioglobina ferrosa é oxigenada, formando-se a oximioglobina pela ligação do oxigénio molecular disponível para ligação covalente do grupo heme (BREWER, 2004, MANCINI; HUNT, 2005). A oximioglobina confere uma coloração vermelho-cereja brilhante às carnes frescas e está diretamente associada com a cor de carnes vermelhas de maior aceitação pelos consumidores (INSAUSTI et al., 1999; CARPENTER, et al., 2001).

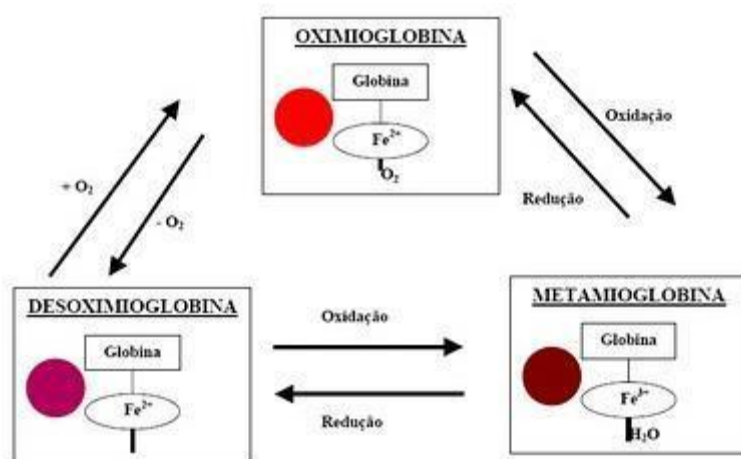


Figura 2 - Reações da mioglobina com o oxigénio. Fonte – GUILHERME et al., 2008.

Segundo Mancini e Hunt (2005), a cor vermelha da carne é relativamente instável, a oximioglobina (vermelho-cereja) e a deoximioglobina (vermelho-púrpura) podem ser oxidadas a metamioglobina (castanha) (Figura 2). E condições de baixa pressão de O₂, a oxidação do ião ferroso à forma férrica (Fe⁺³) resulta na formação de metamioglobina (MacDOUGALL, 1981; SIEDEMAN et al., 1984). A metamioglobina, de cor castanha, é associada pelos consumidores à falta de frescura e salubridade do produto (CARPENTER, et al., 2001; MANCINI; HUNT, 2005).

Desta forma, durante a comercialização da carne fresca, a preservação da cor vermelho-brilhante atraente envolve principalmente a prevenção ou o retardamento da formação de metamioglobina (ROSA, 2009).

A coloração da carne depende em grande parte da fisiologia e da bioquímica dos músculos nas horas que antecedem e logo após o abate. Qualquer situação extrema, tal como o stresse, produz variações das reservas de glicogénio, o que vai causar variabilidade no pH final do tecido muscular, originando alterações significativas como, carnes pálidas e carnes de cor escura.

Assim, a palidez da carne é devida a uma grande proporção de água livre nos tecidos, combinada com o efeito direto do baixo pH nos pigmentos (aceleração da taxa de oxidação da mioglobina) e uma desnaturação excessiva das proteínas durante o período inicial *post mortem*. A água livre aumenta a reflexão da luz incidente, reduzindo assim a intensidade da cor (KIM; HUNT, 2011).

Em casos extremos de depleção elevada das reservas de glicogénio o pH final fica muito elevado, originando carnes que são caracterizadas por apresentarem uma cor escura. Há duas possíveis razões para o escurecimento da cor: as proteínas miofibrilhares da carne com pH alto têm uma maior capacidade de se ligar à água do que a carne com pH normal (5,6-5,8), resultando numa estrutura fechada que inibe a difusão do oxigénio e apresenta baixa dispersão da luz quando comparada na mesma extensão com a superfície mais aberta da carne com um pH final inferior (HULOT; OUHAYOUN, 1999; ABRIL et al., 2001). A segunda possibilidade para uma aparência mais escura da carne em pH elevado está relacionada com a maior actividade do citocromo oxidase mitocondrial. Neste tipo de carne não é formada a oximioglobina, pois no pH final alto o oxigénio não se liga a esta molécula. Além disso, no pH final alto a actividade respiratória do tecido muscular pode ser acelerada, resultando numa visibilidade maior da cor púrpura da mioglobina reduzida tanto quanto da cor vermelha da oximioglobina (SIEDEMAN et al., 1989).

Normalmente, a superfície da carne exposta é vermelha brilhante porque a mioglobina está oxigenada. No entanto, a deterioração dessa cor ocorre durante o armazenamento e exposição, devido à oxidação de pigmentos e/ou mesmo de lípidos, entre outros motivos. Radicais livres produzidos durante a oxidação dos lípidos podem alterar a química do grupo heme e iniciar a oxidação da mioglobina, provocando a perda de cor da carne (LYNCH et al., 1999).

Existem alguns métodos utilizados para medição da cor. Os métodos subjetivos usam escalas de pontuação, nos quais valores menores representam carnes mais claras e maiores as mais escuras, variando a escala padrão da American Meat Science Association (AMSA, 2012) de 1 a 6. Já os métodos objetivos utilizam equipamentos (colorímetros e espectrofotômetros). Com o objetivo de facilitar a comparação entre as variáveis de cor, a CIE (Commission Internationale d'Éclairage) recomendou a utilização da escala de cor CIE L^* a^* b^* , que identifica a cor de um objeto ou uma fonte de luz usando uma notação numérica.

Este método baseia-se num esquema tridimensional no qual a escala que é representada por L^* ou luminosidade, tem variação de valores entre 0 (preto) e 100 (branco), enquanto as variáveis a^* e b^* não tem escalas numéricas associadas. Em eixos perpendiculares à luminosidade, valores positivos de a^* representam a maior intensidade de vermelho e valores negativos contribuição do verde; no outro eixo os valores positivos de b^* representam maior intensidade de amarelo e valores negativos contribuição do azul (AMSA, 2012).

Silveira et al. (2006) observaram menores valores para os parâmetros L^* , a^* e b^* para os animais cruzados de Nelore, indicando cor vermelha escura para carne proveniente desses animais. Andrade et al. (2010) também encontraram nos seus estudos valores de luminosidade (L^*) menores nestes animais, concluindo assim que animais zebuínos, de temperamento mais excitável, originam uma carne mais escura.

Maggioni et al. (2012) concluíram que a composição genética (raças puras ou cruzadas) têm efeito sobre a cor da carne e que animais da raça Nelore apresentam uma carne com coloração mais intensa, que pode ser atribuída a maior frequência de fibras de contração lenta, metabolismo oxidativo e coloração vermelha na composição da sua musculatura. A coloração escura da carne pode ser em virtude do aumento da quantidade de mioglobina com o avançar da idade de abate. Assim, o sistema de acabamento em

confinamento pode acelerar o ganho de peso e antecipar a idade ao abate dos animais, melhorando o aspeto visual da carne de bovinos (MISSIO et al., 2010).

2.3.4. Capacidade de retenção de água

O principal constituinte da carne fresca é a água (75%). A capacidade da carne em reter esta água e converte-se num parâmetro essencial para a satisfação do consumidor e a indústria. Para o consumidor, uma baixa capacidade de retenção de água afeta a aparência da carne *in natura*, o seu comportamento durante o tratamento culinário e a suculência durante a mastigação (HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005).

Nas células musculares a água esta localizada nas miofibrilhas, entre estas e o sarcolema (membrana celular), entre as células do músculo e entre os grupos de feixes musculares (OFFER; TRINICK, 1983; HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005). Têm-se observado que o espaço entre os filamentos varia entre em relação com o pH, comprimento do sarcómero, força iónica, pressão osmótica e se o músculo está em pré-rigor ou post-rigor (OFFER; TRINICK, 1983; PUOLANNE; HALONNE, 2010).

A água no tecido muscular existe de três formas: fortemente “ligada” à proteína, outra fração está “imobilizada” no tecido muscular e outra fração está “livre” (HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005). A água ligada está presente numa quantidade muito pequena no músculo, tem pouca mobilidade e resiste à congelação e à expulsão pelo aquecimento (HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005). A perda da água livre tem a maior importância durante o arrefecimento e armazenamento das carcaças, ocorrendo por evaporação ou gotejamento. A água imobilizada é a que sofre mais alterações no processo de conversão do músculo em carne, dado que as mudanças nas estruturas das células do músculo e a descida do pH podem originar a sua perda por gotejamento/exsudação (HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005).

As proteínas dos músculos tendem-se a desnaturar com a descida do pH, originando uma redução no poder de retenção de água pelo músculo. Além disto, as proteínas miofibrilares, actina e miosina, encontram seu ponto isoelétrico (pH no qual as moléculas de proteínas não têm carga eléctrica) e tendem a perder a água que normalmente é acumulada

nelas. Ambos os fenômenos levam a uma exsudação do fluido das fibras musculares (WARRIS, 2000).

2.3.5. Oxidação Lipídica

Após as perdas por contaminação microbiológica, a oxidação é o principal fator responsável pelas perdas na qualidade e deterioração e uma das principais razões pelas perdas de qualidade durante o armazenamento e redução da vida de prateleira das carnes (HUR; et al., 2007), pois esse processo leva a descoloração, perdas de líquidos, além da formação de odores e sabores desagradáveis e de compostos potencialmente tóxicos (MORRISSEY et al., 1998; OSAWA; et al., 2005).

Apesar dos lipídios serem importantes componentes dos produtos cárneos, conferindo características desejáveis como a suculência, o sabor e o aroma, os mesmos são facilmente oxidáveis. Este processo envolve a degradação de ácidos gordos insaturados em produtos secundários como os aldeídos, cetonas, alcoóis, ácidos e hidrocarbonetos (HERAS et al., 2003).

As carnes contêm lipídios insaturados e componentes pró oxidantes na sua composição e isso aumenta a sua suscetibilidade para desencadear o processo de oxidação lipídica. Das frações lipídicas no músculo, os fosfolípidos, componentes da membrana celular, contêm proporção mais alta de ácidos gordos insaturados e tem sido estabelecido que esta fração seja a mais afetada pela oxidação lipídica em músculos (IGENE et al., 1980).

Os fenômenos oxidativos no músculo ocorrem imediatamente após o abate (ou mesmo no pré-abate), quando o mecanismo celular que controla a oxidação lipídica é inativado (MORRISSEY et al., 1998).

No armazenamento *post-mortem*, a interação de formas reativas de oxigênio, principalmente o radical hidroxilo, com lipídios insaturados desencadeia um processo de peroxidação lipídica que leva à formação de peróxidos de lipídios e outros produtos (MONAHAN, 2000). Tal reação pode ser influenciada pelo grau de insaturação dos ácidos gordos, mas também por fatores extrínsecos como temperatura, luz, nível do oxigênio, tipo de embalagem e tempo de armazenamento (SANTÉ-LHOUTELLIER et al., 2008; OOIZUMI; XIONG, 2008; LUND et al., 2007).

O tecido muscular tem mecanismos antioxidantes endógenos, classificados como antioxidantes preventivos, para controlar oxidação lipídica *in vivo* (SIES, 1986), reduzindo a propagação da reação em cadeia. A atividade dos antioxidantes endógenos reduz-se *post-mortem*, permitindo que radicais livres como o anião superóxido elevem a oxidação de oximioglobina a metamioglobina, ativação de leucócitos presentes nos vasos do tecido muscular e oxidação de ácido ascórbico e outros componentes redutores do ferro na carne (KANNER et al., 1987).

A oxidação lipídica da carne é particularmente evidente pelas alterações da estabilidade da cor e pelo aparecimento de sinais de rancidez (POUZO et al., 2016). As alterações na cor da carne deve-se à acumulação de compostos carbonílicos provenientes da oxidação dos ácidos gordos insaturados e dos fosfolípidos (RODAS-GONZÁLEZ et al., 2011). A formação de produtos secundários da oxidação, como aldeídos, carbonilo e hidrocarbonetos, contribuem para formação de aromas e sabores estranhos na carne, conhecidos como rancidez (RODAS-GONZÁLEZ et al., 2011).

O processo de rancidez causa o desenvolvimento de sabores indesejáveis, descoloração, produção de substâncias potencialmente tóxicas como malonaldeídos e óxidos de colesterol (GRAY; et al., 1996) que podem originar a rejeição para o consumo humano, podendo mesmo ocorrer a formação de moléculas tóxicas, com possíveis danos para a saúde humana (ZANARDI et al., 2002).

Uma forma de avaliar a ocorrência de oxidação na carne é através da identificação de produtos secundários da oxidação, como aldeídos, carbonil e hidrocarbonetos (RODAS-GONZÁLEZ et al., 2011). A análise das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) é um método baseado na determinação espectrofotométrica do malonaldeído, comumente utilizado para avaliar a oxidação lipídica em alimentos. No entanto, o TBARS pode ser utilizado apenas para avaliar a quantificação lipídica total, porque o ácido tiobarbitúrico reage com diversos compostos carbonílicos formados durante a oxidação lipídica. Deste modo, a reação de TBARS não é específica para o malonaldeído (SORENSEN G.; JORGENSEN S.S., 1996; MARIUTTI; NOGUEIRA; BRAGAGNOLO, 2009).

Um nível máximo de 1,0 mg de MDA/kg de carne foi definido como limite para uma boa aceitação pelo consumidor (CAMPOS et al., 2006). De acordo com Colle et al. (2015), o músculo *longissimus* de bovino exposto por 4 dias em condições de prateleira, apresentou

valores inferiores a 1 mg MDA/kg. Já Campo et al. (2006) observaram para carnes expostas por 4 dias médias de 2,3 mg MDA/kg. É de se esperar que carnes em condições de prateleira tenham valores de TBARS elevados, pois elas estão expostas a luz e ao oxigênio que são fatores catalisadores da oxidação lipídica. Na literatura encontra-se uma variabilidade muito elevada nos valores de TBARS para carnes em condições de prateleira (OLIVEIRA et al., 2011; RODAS-GONZÁLEZ et al., 2011; COLLE et al., 2015).

3. Material e Métodos

Todos os procedimentos usados para este estudo envolvendo animais foram conduzidos de acordo com o “Comité de Ética em Experimentos com Animais” aprovado pela Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo *campus* Pirassununga.

3.1. Localização

O estudo foi conduzido na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), da Universidade de São Paulo (USP), em Pirassununga – SP. Os animais foram alojados em instalações do Departamento de Zootecnia e abatidos no Matadouro-Escola da Prefeitura do Campos Administrativo de Pirassununga (PCAPS). As características avaliadas nas carnes em estudo foram analisadas no Laboratório de Avaliação Animal e Qualidade de Carne do Departamento de Zootecnia da FZEA.

3.2. Animais e Tratamento

Foram utilizados animais de dois confinamentos, um composto por 50 e outro por 60 animais, mas para a realização deste estudo apenas foram utilizados 49 bovinos. Para a seleção dos animais foram definidas as seguintes faixas de pH final: menor que 5,7 (normal); entre 5,8 e 6,0 (intermédio) e maior do que 6,1 (alto). O objetivo inicial era conseguir fazer três grupos com 25 animais cada, mas tal não foi possível pois não conseguimos obter amostras suficientes para os dois grupos de pH mais elevado (intermédio e alto).

Os bovinos utilizados eram machos inteiros da raça Nelore (*Bos taurus indicus*), com peso médio no início do estudo de 363 ± 28 kg e idade média de 24 meses. Eram provenientes do rebanho da Prefeitura do Campos Administrativo de Pirassununga (PCAPS). A alimentação, foi oferecida *ad libitum* duas vezes por dia (08h e 16h), composta

por aproximadamente 80% de alimento composto concentrado e 20% de forragem. Os animais foram confinados durante 130 dias.

Os animais eram calmos pois estavam habituados ao manejo diário e à presença de pessoas, pelo que evidenciaram muito poucos sinais de stresse pré-abate; consequentemente, não deverá ter ocorrido depleção das suas reservas de glicogénio muscular, justificando-se assim a dificuldade em encontrar animais com pH final superior a 5,8. Assim, foram utilizados 25 animais para o grupo pH normal, apenas 14 animais para o intermédio e só 10 para o grupo de pH alto.

3.3. Abate

Os animais foram abatidos de acordo com procedimentos humanitários, conforme requerido pela legislação Brasileira, no Matadouro-Escola da Universidade de São Paulo, localizado a cerca de 300 metros do local do confinamento. Os animais foram insensibilizados utilizando uma pistola de dardo cativo penetrante e posteriormente foi realizada a sangria, pela secção dos grandes vasos do pescoço. Em seguida foi realizada a esfolagem, evisceração, divisão e lavagem das carcaças, que foram então colocadas na câmara frigorífica (0-2 °C), durante 24 horas.

3.4. Medição do pH

O pH foi medido individualmente nas carcaças usando um medidor digital portátil de pH (pH HANNA HI99163), previamente calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0. O pH foi medido 24 horas após o abate do animal entre a 12ª e a 13ª costela, no músculo *Longissimus dorsi*.

Com base nos valores de pH medidos foram criadas as três classes de pH final (pH_f): normal (menor que 5,7), intermédio (entre 5,8 e 6,0) e alto (maior que 6,1).

3.5. Recolha das Amostras

Após o período de refrigeração, as meias-carcaças esquerdas foram divididas na região entre a 12ª e a 13ª costela, de onde foram retiradas amostras do músculo *Longissimus dorsi* com aproximadamente 11,5 cm no sentido caudo-cranial, que foram identificadas, embaladas a vácuo e maturadas a uma temperatura de 0-4 °C, durante sete dias (até ao oitavo dia após o abate).

Após o período de maturação foram retiradas duas amostras de 2,5 cm e uma amostra de 1,5 cm de espessura. As amostras com 2,5 cm foram devidamente identificadas, embaladas a vácuo individualmente e congeladas a -20 °C para a determinação da força de corte e das perdas por cozedura, do comprimento do sarcómero e dos lípidos totais. As amostras com 1,5 cm foram embaladas e colocadas em condições de prateleira para a avaliação da cor, das perdas por exsudação e do valor de TBARS aos 0, 3 e 5 dias de exposição.

3.6. Perda de Peso por Cozedura

As amostras foram retiradas das embalagens, pesadas (P_i) e foram inseridos termopares (Data Logger digital 700-10s, Gulterm) no centro geométrico de cada amostra. Seguidamente foram colocadas num forno elétrico industrial (Modelo F130/L – Fornos Elétricos Flecha de Ouro Ind. e Com. Ltda, São Paulo, Brasil) pré-aquecido com um termostato ajustado para 170 °C. Quando as amostras atingiram a temperatura interna de 40 °C foram viradas e permaneceram até atingir a temperatura interna final de 71 °C, conforme metodologia da American Meat Science Association (AMSA, 2015). Após o tratamento térmico as amostras foram deixadas à temperatura ambiente (22 °C) até atingirem os 25 °C, momento em que foram novamente pesadas (P_f) para a determinação das perdas por cozedura (PC), ou seja, $PC (\%) = (P_i - P_f) / P_i \times 100$.

3.7. Força de Corte

Após a pesagem final para determinar as perdas por cozedura as amostras foram embaladas em filme plástico e armazenadas no frigorífico (4-6 °C) durante 24h. Em seguida, foram retirados 6 cilindros (1,27 cm de diâmetro) de cada amostra, no sentido paralelo ao das fibras, para determinação da força de corte através de um texturómetro (TMS-PRO analisador de textura, Food Technology Corporation, Sterling, Virginia, USA) equipado com uma lâmina de corte do tipo Warner–Bratzler, com velocidade de funcionamento fixada em 200 mm/min (AMSA, 2015). A força de corte de cada amostra foi considerada como a média das 6 repetições.

3.8. Lípidos Totais

As amostras foram trituradas num processador (Modelo Mixer Walita RI1364 com microprocessador – Philips do Brasil LTDA, Divisão Walita – Varginha, Minas Gerais, Brasil), das quais se pesaram 3 g para a realização do protocolo proposto por Bligh e Dyer (1959) (Procedimento Laboratorial em Anexo 1).

3.9. Comprimento do Sarcómero

Foram preparados seis cilindros (1,27 cm de diâmetro) de cada amostra crua, paralelamente a orientação da fibra, e foram retiradas 6 fibras de cada cilindro para a medição do comprimento do sarcómero por difração a laser (Helium Neon Laser Modelo 05-LHR-021, Melles Griot, Carlsbad, CA, EUA), de acordo com a metodologia proposta por Cross et al. (1981) e Koolmees et al. (1986). Deste modo, foram avaliados 36 comprimentos de sarcómero em cada amostra, sendo o resultado a média destas 36 observações (Procedimento Laboratorial em Anexo 2).

3.10. Cor e Oxidação Lipídica

Após o período de maturação, as amostras foram retiradas das embalagens e expostas ao ar ambiente por 20 minutos para determinação da cor objetiva utilizando o sistema CIELab (CIE, 1986), onde L^* é a luminosidade ($L^*=0$ preto, 100 branco), a^* é o índice de vermelhos que varia do verde (-) ao vermelho (+), e b^* é o índice de amarelos que varia do azul (-) ao amarelo (+). A medida da cor foi realizada em três pontos distintos da amostra, utilizando um colorímetro (modelo CM2500d, Konica Minolta Brasil, São Paulo, Brasil), com iluminante padrão D65, ângulo de observação de 10° e abertura do obturador de 30mm. Os valores de cor foram considerados como a média das três leituras.

A oxidação lipídica foi avaliada de acordo com a metodologia proposta por Vatansever et al. (2000). As amostras foram pesadas (P_i) e colocadas sobre um papel absorvente em bandejas de poliestireno e embrulhadas em papel filme permeável ao oxigênio e posteriormente colocadas num balcão expositor refrigerado (modelo vertical, 125 LX, Auden, Brasil) durante 3 e 5 dias, sob condições que simulavam o ambiente comercial (4°C e iluminação de 1.000 lux). Após o término de cada período (3 e 5 dias), a cor foi novamente medida seguindo o mesmo sistema descrito acima e a amostra foi novamente pesada (P_f), para obter as perdas por exsudação, ou seja, $\text{PPE}(\%) = (P_i - P_f) / P_i \times 100$. Depois de pesadas as amostras foram acondicionadas em papel de alumínio e congeladas (-20°C) para posterior utilização na avaliação do teor de TBARS.

3.11. Oxidação Lipídica

A oxidação lipídica foi quantificada nas amostras após 0, 3 e 5 dias de exposição em condições que simulavam o ambiente comercial (4°C e iluminação de 1.000 lux). As amostras foram trituradas e homogeneizadas num ultra-turrax e posteriormente analisadas de acordo com a metodologia proposta por Vyncke (1975) e modificada por Sorensen e Jorgensen (1996). As leituras das absorvâncias foram realizadas a 530 e 632 nm, tendo sido previamente preparada uma curva padrão com 5 pontos utilizando-se uma solução de tetraetoxipropano de concentração conhecida. Para a obtenção da concentração de MDA nas amostras foi utilizada a equação fornecida pela curva padrão (Procedimento Laboratorial em Anexo 3).

3.12. Análise Estatística

O efeito das faixas de pH sobre as características da carne analisadas foi avaliado por análise de variância, utilizando o procedimento PROC MIXED (SAS 9.3, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). As características de carne foram avaliadas como um delineamento inteiramente casualizado. No modelo a faixa de pH foi utilizada como efeito fixo e o confinamento como efeito aleatório. O animal foi utilizado como unidade experimental. As características avaliadas ao longo do tempo (cor, perdas por exsudação e TBARS) foram avaliadas como medidas repetidas no tempo. As matrizes de covariância foram testadas para cada característica e a que apresentou o melhor ajustamento foi utilizada (Crowder e Hand, 1990).

As médias das variáveis estudadas foram obtidas por LSMeans e comparadas utilizando o Teste T de Student com um nível de significância de 5%.

4. Resultados e Discussão

4.1. Perda de Peso por Cozedura

A avaliação da perda de peso por cozedura (PPC) de bifes do músculo *Longissimus dorsi* de bovinos machos inteiros mostra que entre os três grupos de pH final existem diferenças significativas ($P < 0,05$). Os animais da faixa de pH_f alto apresentam menor valor de PPC quando comparados com os animais da faixa de pH intermédio (Figura 3).

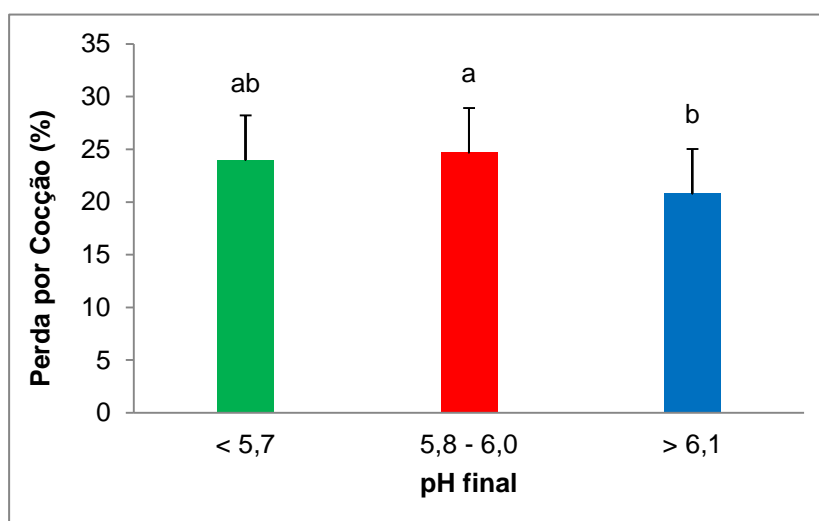


Figura 3 - Influência do pH final na perda por cozedura no músculo *Longissimus dorsi* de animais machos inteiros da raça Nelore.

As perdas de peso por cozedura da carne são as perdas totais de água, gordura, proteínas e minerais devido à contração das proteínas miofibrilares durante a cozedura (actina e miosina) (YU et al., 2005). Nos bovinos os valores variam de 13,1 a 34,5% (MUCHENJE et al., 2009) e espera-se que a perda seja o menor possível, pois além de representar as perdas de proteínas da carne está associada com o rendimento da mesma no momento da sua preparação culinária.

A formação do ácido láctico e a consequente descida do pH *post mortem* são responsáveis pela diminuição da capacidade de retenção de água da carne. Estas reações causam desnaturação e perda da solubilidade das proteínas musculares e, consequentemente, estes grupos perdem a capacidade de se ligarem à água. Assim sendo, uma possível explicação para os valores de perda de água por cozedura encontrados em algumas amostras é o seu pH_f estar próximo do ponto isoelétrico das proteínas musculares. Além disso, o alto pH do músculo favorece a formação de ligações fortes entre proteínas e a água, diminuindo a água livre (Lawrie, 2005).

As perdas por cozedura foram menores em carne DFD (pH > 6,1), corroborando Silva, et al. (1999). A diminuição das perdas por cozedura é um reflexo do aumento da capacidade de retenção de água associada com carnes de alto pH₂₄ (BOUTON; HARRIS; SHORTOSE, 1971), uma vez que as proteínas presentes no músculo continuam ligadas a água dificultando a sua saída (HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2007). Bouton et al. (1973) consideraram que a maior capacidade de retenção de água de carne de alto pH₂₄ poderia contribuir para carnes com maior tenrura.

Como observado, o pH final tem efeito sobre a capacidade de retenção de água, sendo que a carne com pH final acima de 6,1 tem maior retenção de água, diminuindo a perda de água na cozedura, consequentemente uma determinada área transversal da amostra irá conter mais água e menos componentes estruturais, melhorando a tenrura da carne (PURCHAS, 1990).

As características da carne associadas à cor, textura, consistência, suculência e tenrura da carne cozinhada dependem, em parte, da capacidade de retenção de água (PARDI et al., 2001). Segundo estes autores, a manifestação de retenção de água traduz-se das seguintes formas: pela exsudação (ou gotejamento) de líquido, observada na carne crua e não congelada; pela exsudação de líquido típica de carne durante a descongelação; e pela exsudação da carne cozinhada. A capacidade de retenção de água é um atributo de qualidade da carne muito importante, pois além de influenciar a aparência depois de cozinhada, mostra o seu comportamento durante o tratamento culinário e a sua suculência no momento de consumo (LAAK, 1989).

4.2. Força de Corte

Foram encontradas diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os vários grupos de pH final em estudo. Os animais da faixa de pH_f intermédio apresentaram os valores mais elevados de força de corte quando comparado com os das faixas de pH_f normal e pH_f alto (Figura 4).

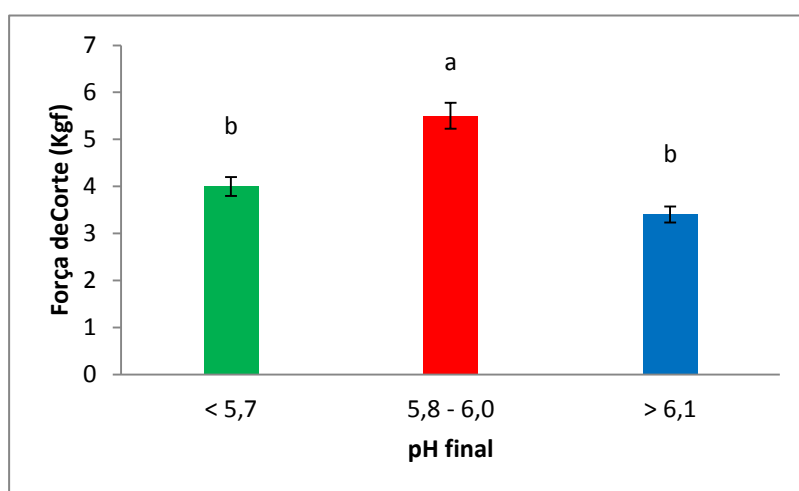


Figura 4 - Influência do pH final na força de corte no músculo *Longissimus dorsi* de animais machos inteiros da raça Nelore.

Alguns estudos indicam que nos animais *Bos taurus taurus* as carnes tenras apresentam valores de força de corte abaixo de 4,5 kgf, enquanto que na carne dos animais *Bos taurus indicus* esse valor é de 6 kgf (WHEELER; CUNDIF; KOCH, 1994; WHEELER et al., 1994).

O natural aumento da tenrura da carne em condições refrigeração está relacionado com um processo da fragmentação e alterações na estrutura miofibrilhar, devido à proteólise que ocorre nas proteínas inter miofibrilhares (desmina, vinculina), intra miofibrilares (titina, nebulina) e de outras proteínas que ligam as miofibrilhas ao sarcolema. As principais enzimas endógenas associadas a este processo de melhoria da tenrura são os sistemas das calpaínas e as catepsinas (SMITH, CULP e CARPENTER, 1978; MORGAN et al., 1993; EILERS et al., 1996; KOOHMARAIE e GEESINK, 2006; KEMP et al., 2010), e as suas atividades dependem do pH final do tecido muscular *post mortem* (KOOHMARAIE, 1994; WATANBE et al., 1996; WU et al., 2014). Baseado nos resultados obtidos nestes trabalhos,

poder-se-ia afirmar que a maior tenrura observada nas carnes com o pH_f alto pode ser devido ao resultado da proteólise das proteínas estruturais presentes no sarcômero como a titina, a filamina e a nebulina, resultados estes que estão em concordância com os obtidos por Contreras-Castillo et al. (2016), Lomiwes et al. (2014) e Wu et al. (2014). No caso das carnes com pH_f normal, os valores da força de corte podem ser explicados pela proteólise da desmina combinada com a degradação um pouco mais tardia de titina e da nebulina, como propôs Lomiwes et al. (2014).

As catepsinas e as calpaínas têm sido referidas em inúmeros trabalhos como sendo as principais enzimas que atuam na proteólise muscular *post mortem*. Sendo estas enzimas muito sensíveis ao pH final do músculo, este valor acaba por influenciar a tenrura final da carne (SHACKELFORD et al., 1991).

Diversas pesquisas descrevem um declínio na tenrura quando há um aumento do pH final de 5,4 para 6,1 (PURCHAS, 1990). Também Purchas e Aungsupakorn (1993) descreveram a ocorrência de carnes mais tenras tanto quando o pH final eram baixos como quando estes valores eram próximos ou superiores a 7,0, o que está em perfeita concordância com os resultados obtidos neste trabalho.

Além disso, o pH final tem um efeito sobre a capacidade de retenção de água, sendo que a carne com pH_f alto tem maior retenção de água, diminuindo a perda de água no tratamento térmico. Consequentemente, uma determinada área transversal da amostra irá conter mais água e menos componentes estruturais, melhorando a tenrura da carne (PURCHAS, 1990), o que poderá justificar o menor valor da força de corte observado no nosso trabalhos nas carnes dos animais do grupo de pH_f alto.

4.3. Lípidos Totais

Tal como seria de esperar, não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) na quantidade de lípidos totais entre as carnes das diferentes faixas de pH final (Tabela 1).

4.4. Comprimento do Sarcômero

Para o comprimento do sarcômero não se encontraram diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os vários níveis de pH final (Tabela 1). O comprimento do sarcômero tem um efeito direto sobre a tenrura da carne (PURCHAS; AUNGSUPAKORN, 1993; WHEELER; KOOHMARAIE, 1999), pois músculos com os sarcômeros mais longos oferecem menor resistência ao corte (HERRING; CASSENS; RRISKEY, 1965). Além disso, o comprimento do sarcômero tende a aumentar com a diminuição do pH da carne.

Purchas (1990) reporta que o comprimento do sarcômero aumentou de 1,51 para 1,64 μm quando o pH final diminuiu de 6,2 para 5,4. Segundo o mesmo autor, o efeito do pH na faixa de 5,4 a 6,2 sobre valores da força de corte foi mediado, pelo menos em parte, pelo efeito do comprimento de sarcômero, suportando a correlação negativa entre o pH final e o comprimento sarcômero. Resultados similares foram encontrados por Purchas et al. (2002) e Purchas, Aungsupakorn (1993).

Na Tabela 1 encontram-se resumidos os resultados obtidos nas determinações das perdas por cozedura, da força de corte, dos lípidos totais e do comprimento do sarcômero nas carnes das três faixas de pH final.

Tabela 1 – Influência do pH final da carne nos valores de Perdas por Cozedura, Força de Corte, Lípidos Totais e Comprimento do Sarcômero do músculo *Longissimus dorsi* de bovinos machos inteiros da raça Nelore.

Item	Nível			Valor de <i>P</i>
	pH _f < 5,7	5,8 < pH _f > 6,0	pH _f > 6,1	
Perda por Cozedura (%)	24 \pm 4,21 ab	24,7 \pm 4,21 a	20,8 \pm 4,22 b	0,0247
Força de Corte (kgf)	4 \pm 0,43 b	5,5 \pm 0,47 a	3,4 \pm 0,5 b	0,0008
Lípidos Totais (%)	1,9 \pm 0,21	1,4 \pm 0,22	1,5 \pm 0,22	0,0626
Comprimento do Sarcômero (μm)	1,8 \pm 0,06	1,7 \pm 0,06	1,7 \pm 0,06	0,0774

^{a-b} Valores de diferentes letras sobrescritos diferem estatisticamente dentro de cada item (estimativa da média \pm erro padrão)

4.5. Cor

4.5.1. Valor de L*

Para o valor de cor L* (luminosidade) não se observou a existência de uma interação entre as diferentes faixas de pH final e o tempo de prateleira, mas foram observadas diferenças significativas ($P < 0,05$) para o efeito do pH final e do tempo de prateleira (Figura 5).

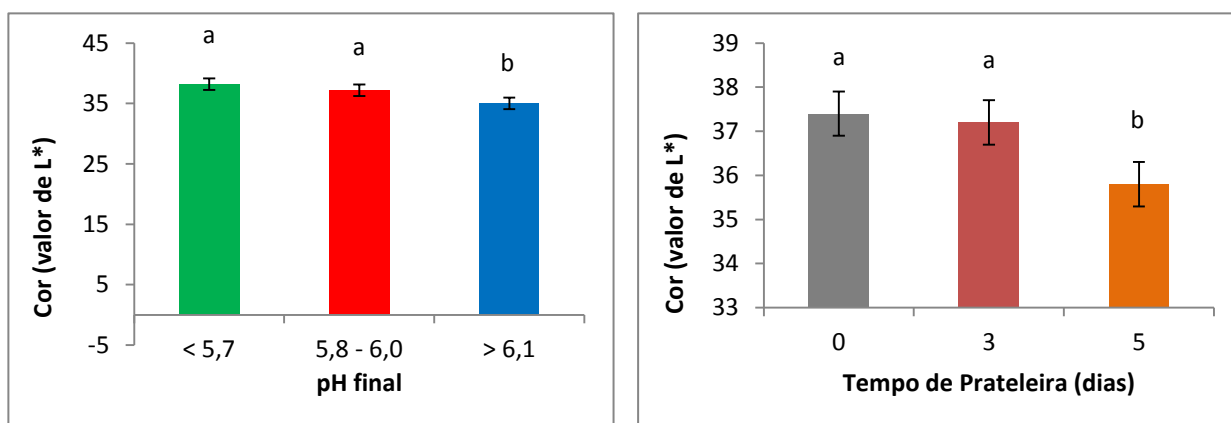


Figura 5 - Influência do pH final (esquerda) e do tempo de prateleira (direita) no valor de L* no músculo *Longissimus dorsi* de animais machos inteiros da raça Nelore.

Os resultados obtidos indicam que a luminosidade da carne diminui com o aumento do valor do pH final, sendo que o valor obtido nas carnes com o pH_f alto foi significativamente ($P < 0,05$) inferior ao dos outros dois grupos. Verificou-se também que a luminosidade da carne diminui com o tempo de prateleira, sendo o valor observado no dia 5 significativamente mais baixo ($P < 0,05$).

Renner e Labas (1987) afirmam que a descida de pH muscular atua no processo de oxigenação e oxidação da mioglobina. Além disso, a descida de pH muscular atua também na cor superficial da carne tornando-a mais brilhante, principalmente no que se refere à capacidade de retenção de água no músculo, influenciando assim a escala de cor relacionada com a luminosidade, ou seja, os valores de L*.

Abril et al. (2001), avaliando carcaças de animais alocados em diferentes grupos de pH muscular confirmaram que o pH foi o fator mais importante para explicar as diferenças de coloração da carne encontrada entre os grupos. Valores menores de L^* foram relacionados por Abril et al. (2001) com o pH mais elevado, acompanhado por carnes com coloração mais escuras. No entanto, outros autores não atribuíram ao pH o grau de maior importância na estabilidade da cor da carne (HOOD, 1980).

Kings et al. (2011) observaram, como neste estudo, uma diminuição em valores de L^* de músculo *Longissimus* quando exposto ao oxigénio por 5 dias.

4.5.2. Valores de a^* e b^*

Para os valores de a^* (intensidade de vermelho) e de b^* (intensidade de amarelo), observou-se uma interação entre o efeito das faixas de pH final e do tempo de prateleira ($P_{\text{pH} \times \text{TEMPO}} < 0,05$) (Figura 6).

Observando a Figura 6 verifica-se nas carnes com pH_f alto e intermédio os valores de a^* e de b^* aumentam do dia 0 para o dia 3, estabilizando até ao dia 5, enquanto que nas carnes com o pH_f normal a evolução foi contrária, diminuindo os valores de a^* e de b^* do dia 0 até ao dia 5. Estes resultados explicam a interação significativa que foi observada.

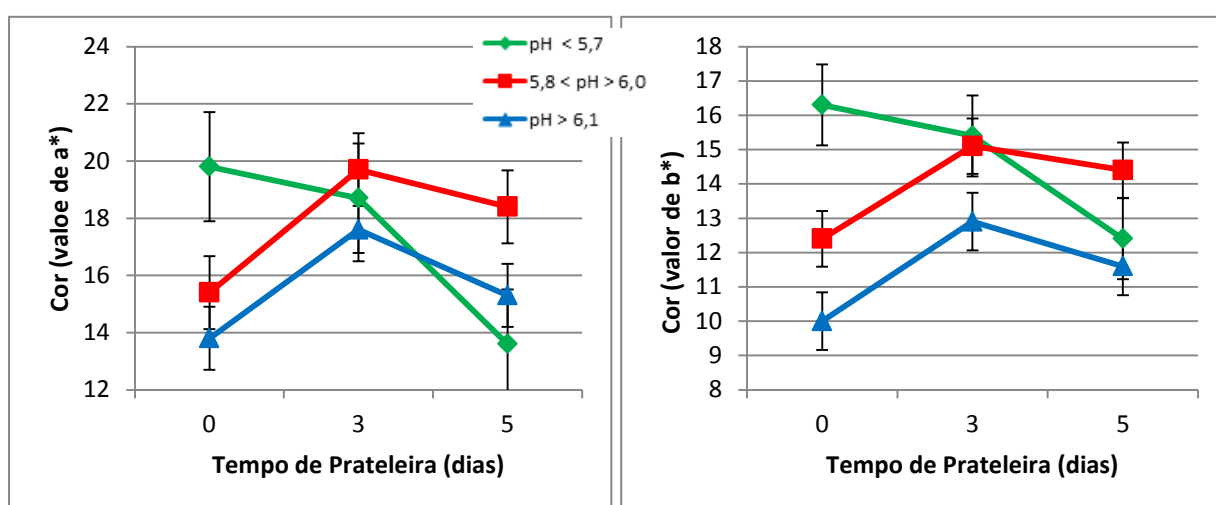


Figura 6 - Interação entre pH final e o tempo de prateleira no valor de a^* (esquerda) e no valor de b^* (direita) no músculo *Longissimus dorsi* de animais machos inteiros da raça Nelore.

O pH final atua como fator determinante da coloração da carne por ter grande importância na determinação do estado de oxidação da mioglobina e na capacidade de retenção de água do músculo, este último relacionado com o brilho à superfície da carne.

Os resultados obtidos neste trabalho referentes aos valores de a^* e b^* revelam que a carne com pH_f alto tem uma menor componente vermelha (a^*) e amarela (b^*) do que carnes com pH_f normal e pH_f intermédio, situação que é referida por vários autores (WULF et al., 2002). A cor mais escura da carne com pH_f alto é devida essencialmente a dois fatores. Por um lado, devido ao pH_f elevado, as proteínas miofibrilhares da carne tem uma maior capacidade de se ligar à água do que a carne com pH final pH_f normal, resultando numa estrutura fechada com poucos espaços extracelulares e uma maior capacidade de reter água, inibindo a difusão do oxigénio, permitindo desta forma uma maior absorção da luz incidente e baixa dispersão da luz na superfície da carne (ABRIL et al., 2001).

O aumento da intensidade de vermelho e de amarelo das amostras em relação ao tempo já era esperada, mediante as condições de embalagem e armazenamento utilizadas no presente estudo, uma vez que a presença de oxigénio favorece a oxidação da oximioglobina em metamioglobina (MANCINI e HUNT, 2005). A formação de oximioglobina de cor vermelho brilhante está reduzida devido ao consumo de oxigénio pelas mitocôndrias ser favorecido a pH final elevado. Desta forma, a camada vermelha brilhante de oximioglobina que se forma na superfície é reduzida, predominando a mioglobina de cor púrpura (LEDWARD et al., 1986; SIEDEMAN et al., 1989; RENERRE, 1990).

4.6. Perdas de Peso por Exsudação

Observando a Figura 8 verificamos que as perdas de peso por exsudação foram significativamente ($P_{\text{TEMPO}} < 0,05$) mais elevadas entre o dia 0 e o dia 5 do que entre o dia 0 e o dia 3, tal como seria de esperar. O efeito do pH final não foi significativo para as perdas por exsudação.

Também Vergara et al. (2003) referem que as perdas por gotejamento são mais elevadas com o decorrer do tempo de prateleira. É de referir, no entanto, que numa carne bem armazenada, com pH e temperatura de armazenamento adequados, procedente de animais sem stresse, as perdas de água por exsudação serão pequenas, e não afetarão a qualidade final do produto (LUCHIARI FILHO, 2005).

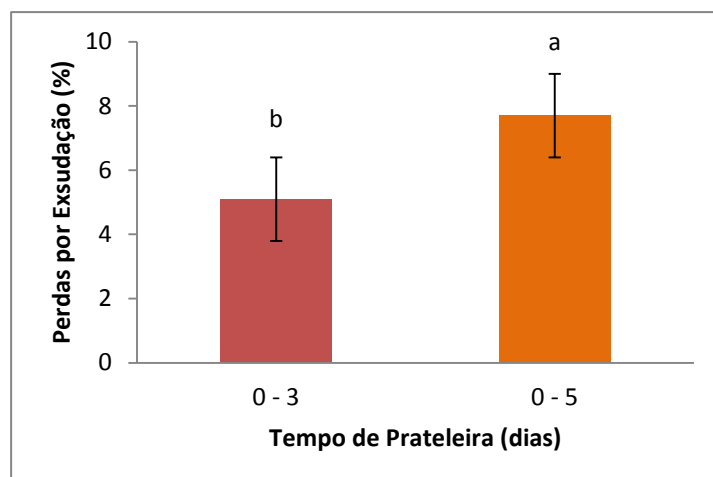


Figura 7 - Influência do tempo de prateleira nas perdas por exsudação no músculo *Longissimus dorsi* de animais machos inteiros da raça Nelore.

4.7. Oxidação Lipídica

Os resultados obtidos na determinação dos valores de TBARS mostram que as carnes com pH_f intermédio e alto apresentaram valores significativamente mais baixos ($P_{pH} < 0,05$) do que as com pH_f normal, e que estes valores aumentam significativamente com o aumento do tempo de prateleira ($P_{TEMPO} < 0,05$) (Figura 9).

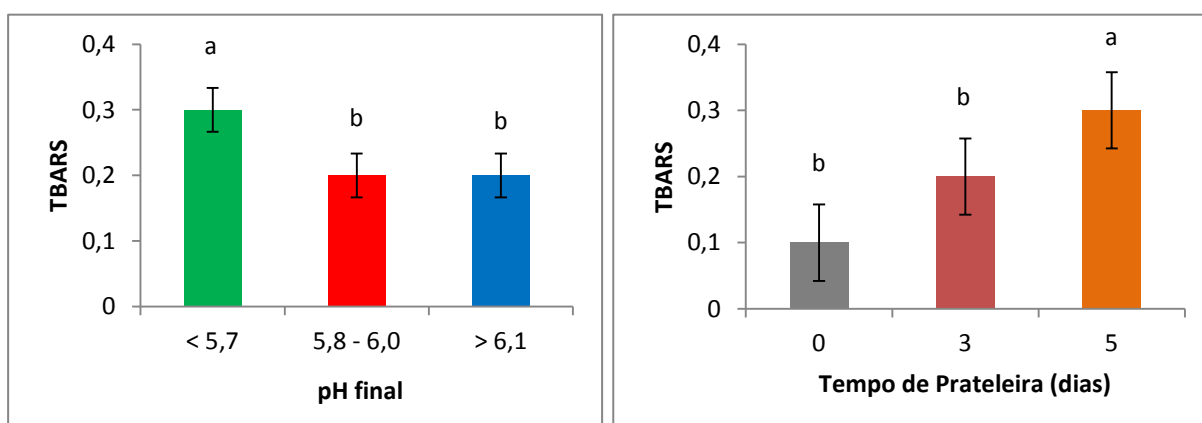


Figura 8 - Influência do pH final (esquerda) e do tempo de prateleira (direita) no valor de TBARS no músculo *Longissimus dorsi* de animais machos inteiros da raça Nelore.

A oxidação lipídica é uma das principais causas da deterioração da qualidade, especialmente de produtos cárneos armazenados. As alterações nos parâmetros de qualidade manifestam-se por alterações indesejáveis no sabor, cor, textura e valor nutritivo, sendo até possível ocorrer a formação de compostos tóxicos. A rutura da integridade da membrana muscular por mecanismos como corte e mistura, alteram a compartimentalização celular, facilitando a interação de agentes pró-oxidantes com ácidos gordos insaturados, resultando na formação de ácidos gordos livres e de reações oxidativas (GRAY et al., 1996).

O valor de TBARS mais elevado nas carnes com pH_f normal é bastante inesperado, visto que estas as características de maior oxidação lipídica e de menor palatabilidade estão associadas a carnes de pH mais elevado (WULF et al., 2002). A carne DFD fica mais suscetível a deterioração, pois o seu pH alto e a maior quantidade de água retida na mesma, aumenta a possibilidade de ocorrer crescimento microbiano, o que poderá conduzir à redução da sua vida útil e até, eventualmente, constituir um risco para os consumidores (SILVA et al., 1999).

Os valores baixos de TBARS aqui observados para as carnes com o pH_f alto podem ser explicados pelo facto de o valor do pH destas carnes ser relativamente baixo para carnes ditas DFD, sendo que 60% das amostras desta faixa de pH apresentam valores inferiores ou iguais a 6,2. Refira-se que o valor que mais recentemente tem sido utilizado para referenciar uma carne como sendo DFD é superior a 6,2 (VAZ e RESTLE, 2000; ROÇA, 2013).

Observamos também que quanto mais tempo a carne está em exposição maior o seu valor de TBARS, o que seria de esperar, visto que nestas condições de prateleira a carne está exposta à luz e ao oxigénio, que são fatores catalisadores da oxidação lipídica.

Os valores de TBARS observados não foram superiores a 0,40 mg MAD/kg de amostra, demonstrando a qualidade dos sistemas de processamento e de armazenamento, permanecendo consideravelmente abaixo da perceção sensorial e dentro do limite aceitável para o consumo de 1,0 mg malonaldeído/kg (CAMPOS et al. 2006).

Na Tabela 2 encontram-se resumidos os resultados obtidos nas determinações relacionadas com a cor (L*, a*, b*), das perdas de exsudação e de TBARS.

Tabela 2 - Valores de cor (L^* , a^* , b^*), perda por exsudação e TBARS do músculo *Longissimus dorsi* de bovinos machos inteiros em diferentes faixas de pH final e em diferente tempo de prateleira.

Item	Tempo	Nível			media + EPM	Valor de P		
		pH _f < 5,7	5,8 < pH _f > 6,0	pH _f > 6,1		pH	TEMPO	TRAT*TEMPO
Cor L*	0	39,2 ± 0,92	37,7 ± 1,02	35,1 ± 1,10	37,4 ± 0,77 a	<0,0001	0,0194	0,6076
	3	39 ± 0,92	37,4 ± 1,02	35,4 ± 1,10	37,2 ± 0,77 a			
	5	36,5 ± 0,92	36,4 ± 0,02	34,5 ± 1,10	35,8 ± 0,77 b			
	media + EPM	38,2 ± 0,79 a	37,2 ± 0,81 a	35 ± 0,83 b				
Cor a*	0	19,8 ± 1,42 a A	15,4 ± 1,52 b B	13,8 ± 1,62 b B	16,3 ± 1,25 b	0,0277	0,0006	<0,0001
	3	18,7 ± 1,42 a A	19,7 ± 1,52 a A	17,6 ± 1,62 a B	18,7 ± 1,25 a			
	5	13,6 ± 1,42 b B	18,4 ± 1,52 a A	15,3 ± 1,62 a B	15,8 ± 1,25 b			
	media + EPM	17,4 ± 1,29 a	17,8 ± 1,3 a	15,6 ± 1,32 b				
Cor b*	0	16,3 ± 0,1 a A	12,4 ± 1,06 b B	10 ± 1,12 b B	12,9 ± 0,88 b	<0,0001	0,0026	<0,0001
	3	15,4 ± 0,1 a A	15,1 ± 1,06 a A	12,9 ± 1,12 a B	14,5 ± 0,88 a			
	5	12,4 ± 0,1 b B	14,4 ± 1,06 a A	11,6 ± 1,12 ab B	12,8 ± 0,88 b			
	media + EPM	14,7 ± 0,91 a	14 ± 0,92 a	11,5 ± 0,93 b				
Perdas por Exsudação (%)	3	6,7 ± 1,58	4,5 ± 1,64	4,2 ± 1,7	5,1 ± 1,42 b	0,0847	0,0006	0,245
	5	8,5 ± 1,58	9,7 ± 1,64	6 ± 1,7	7,7 ± 1,42 a			
	media + EPM	7,6 ± 1,51	6,6 ± 1,51	5,1 ± 1,53				
TBARS (mg MDA Kg tecido ⁻¹)	0	0,2 ± 0,06	0,1 ± 0,06	0,1 ± 0,06	0,1 ± 0,05 b	0,005	<0,0001	0,8658
	3	0,3 ± 0,06	0,1 ± 0,06	0,1 ± 0,06	0,2 ± 0,05 b			
	5	0,4 ± 0,06	0,3 ± 0,06	0,2 ± 0,06	0,3 ± 0,05 a			
	media + EPM	0,3 ± 0,05 a	0,2 ± 0,05 b	0,2 ± 0,05 b				

^{a-b} Valores de diferentes letras sobrescritos diferem estatisticamente dentro de cada nível de pH final

^{A-B} Valores de diferentes letras sobrescritos diferem estatisticamente dentro de cada item (estimativa da média ± erro padrão)

5. Conclusão

Os resultados obtidos neste estudo indicam que o pH final é um preditor das características de qualidade da carne de animais machos inteiros da raça Nelore, como a tenrura e a cor.

As carnes com o pH final intermédio apresentaram uma força de corte mais elevada que as dos outros dois grupos. A carne com pH final elevado apresentou ainda uma cor mais escura.

As carnes com pH final normal apresentaram resultados inesperados, e para os quais não temos explicação, no que respeita à evolução ao longo do tempo de exposição em prateleira dos parâmetros relacionados com a cor (a^* e b^*) e com a oxidação lipídica, mais elevada do que nos outros grupos.

Embora a qualidade da carne *in natura* seja um assunto exaustivamente estudado, é necessário continuar estas linhas de investigação, de modo aumentar a compreensão e melhoramento de diferentes aspetos chaves da qualidade, o que permitirá desenvolver estratégias e tecnologias mais eficazes na conservação dos atributos que são desejáveis ao consumidor.

Referências Bibliográficas

ABIEC. **Exportações Brasileiras de carne Bovina**. Disponível em: <<http://www.abiec.com.br/download/Jan%20-%20Dez%20-%202014.pdf>>. Acesso em: 02 Abril 2016.

ABRIL, M.; CAMPO, M.M.; ÖNENÇ, A.; SAÑUDO, C.; ALBERTI, P.; NEGUERUELA, A.I. Beef colour evolution as a function of ultimate pH. **Meat Science**, Barking, v. 58, p.69-78, Oct. 2001.

AMSA – AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION. **Meat color measurement guidelines**. Champaign, Illinois, Aug. 2012. 125p.

AMSA. **Research guidelines for cookery, sensory evaluation, and instrumental tenderness measurements of meat**. 2. ed. Champaign, Illinois: American Meat Science Association, 2015.

ANDRADE, P.L.; BRESSAN, M.C.; GAMA, L.T.; GONÇALVES, T.M.; LADEIRA, M.M.; RAMOS, E.M. Qualidade da carne maturada de bovinos Red Norte e Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 8, p. 1791-1800, 2010.

AZEVEDO, P. R. A. O valor nutricional da carne. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, v.37, n.327, p.18-33, 2004. **Food and Bioprocess Technology**, v. 3, n. 4, p. 561-567, 2010.

BARCELLOS, M.D. **“BeefLovers” um estudo cross-cultural sobre o comportamento de consumo de carne bovina** . 329p. Tese (Doutorado na Area de Agronegócios) - Universidad Federal do Rio Grande do Sul, 2007.

BELTRAN, J. A., JAIME, I., SANTOLARIA, P., SANUDO, C., ALBERTI, P., RONCAALÉS, P. Effect of stress-induced high post-mortem pH on protease activity and tenderness of beef. **Meat Science**, 45(2), 201–207, 1997.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911–917, 1959.

BOLEMAN, S.J.; BOLEMAN, S.L.; MILLER, R.K. Consumer evaluation of beef of known categories of tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 75, n. 6, p. 1521-1524, 1997.

BOUTON, P.E.; HARRIS, P.V.; SHORTHOSE, W.R. Effect of ultimate pH upon the water-holding capacity and tenderness of mutton. **Journal of Animal Science**, v.36, p.435-439, 1971.

BOUTON, P.E. et al. Influence of pH and fibre contraction state upon factors affecting the tenderness of bovine muscle. **Journal of Food Science**, v.38, p.4004-407, 1973

BREWER, S. Irradiation effects on meat color – a review. **Meat Science**, Barking, v.68, p. 1-17, Feb. 2004.

BRONDANI, I.L., SAMPAIO, A.A.M., RESTLE, J. FREITAS, L.S.; AMARAL, G.A.; SILVEIRA, M.F.; CEZIMBRA, I.M. Composição física da carcaça e aspectos qualitativos da carne de bovinos de diferentes raças alimentados com diferentes níveis de energia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 5, p. 2034-2042, 2006.

CAMPOS, M. M.; NUTE, G. R.; HUGHES, S. I.; ENSER, M.; WOOD, J. D.; RICHARDSON, R. I. Flavour perception of oxidation in beef. **Meat Science**, v. 72, n. 2, p. 303–11, 2006.

CARPENTER, C.E.; CORNFORTH, D.P.; WHITTIER, D. Consumer preferences for beef color and packaging did not effect eating satisfaction. **Meat Science**, Barking, v.57, p.359-363, Aug. 2001.

CIE. Colorimetry (cie publications no. 15.2); colorimetric illuminants (cie soo1); colorimetric observers (cies002). 2. ed. Viena: Central Bureau of the CIE, 1986.

COLLE, M. J.; RICHARD, R. P.; KILLINGER, K. M.; BOHLSCHEID, J. C.; GRAY, A.

R.; LOUCKS, W. I.; DAY, R. N.; COCHRAN, A. S.; NASADOS, J. A.; DOUMIT, M. E. Influence of extended aging on beef quality characteristics and sensory perception of steaks from the gluteus medius and *Longissimus lumborum*. **Meat Science**, v. 110, p. 32–39, 2015.

COOK, T. W. Factors Contributing to the Incidence of “Dark-Cutting” Condition in Beef Carcasses and Management Strategies to Prevent Reductions in Value as a Result of their Occurrence. Master’s Thesis, Texas Tech University, Lubbock, Texas. 1998.

CORÓ, A.G., YOUSSEF, E.Y; SHIMOKOMAKI, M.1999. Carne do zebu: O que está atrás da sua textura. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, v.23, n.271, p.28-34, 1999.

CONTRERAS-CASTILLO, C.J.; LOMIWES, D.; WU, G.; FAROUK, M.M. The effect of electrical stimulation on post mortem myofibrillar protein degradation and small heat shock protein kinetics in bull beef. **Meat Science**, Barking, v.113, p.65-72, Nov. 2016.

COSTA, E.C.; RESTLE, J.; BRONDANI, I.L.; PEROTTONI, J.; FATURI, C.; MENEZES,L.F.G. Composição física da carcaça, qual idade da carne e conteúdo de colesterol no músculo *Longissimus dorsi* de novilhos red angus superprecoces, terminados em confinamento e abatidos com diferentes pesos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 1, p. 417-428, 2002.

CROSS, H. R.; WEST, R. L.; DUTSON, T. R. Comparison of methods for measuring sarcomere length in beef semitendinosus muscle. **Meat Science**, v. 5, n. 4, p. 261–266, 1981.

DELGADO, E.; AGUIAR, A.P.; ORTEGA, E.; SPOTO, M.; CONTRERAS, C. Brazilian consumer’s perception of tenderness of beef steaks classified by shera force and teste. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.63, n.3, May/Jun. 2006

DRANSFIELD, E. Eating quality of DFD beef. Current Topics in **Veterinary Medicine and Animal Science**, v.10, p.344-361, 1981

DRANSFIELD, E. Optimisation of Tenderisation, Ageing and Tenderness. **Meat Science**, Savoy, v.36, p.105-121, 1994.

EILERS, J. D. et al. Modification of Early-Postmortem Muscle pH and Use of Postmortem Aging to Improve Beef Tenderness. **Journal of Animal Science**, Champaign, IL, v. 74, n. 4, p. 790–798, 1996.

FELÍCIO, P.E. **Carcass composition and quality traits of zebu steers slaughtered in the state of São Paulo Brazil**. Kansas-USA, 1982. 217 p. Tese (Doutorado) – Kansas State University, USA.

FELÍCIO, P.E. de. Fatores ante e post mortem que Influenciam na qualidade da carne vermelha. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 30., 1993, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: SBZ, 1993. p. 43-52.

FELÍCIO, P.E. Fatores ante e postmortem que influenciam na qualidade da carne bovina. In: **Produção do Novilho de Corte**. A.M. Peixoto, J.C. Moura & V.P. Faria Eds. P.79-97. FEALQ, Piracicaba, 1997.

FERGUSON, D.M.; WARNER, R.D. Have we underestimated the impact of pre-slaughter stress on meat quality in ruminants? **Meat Science**, v.80, p.12-19, 2008

GARCIA, L. G., K. L. NICHOLSON, T. W. HOFFMAN, T. E. LAWRENCE, D. S. HALR, D. B. GRIFFIN, J. W. SAVELL, D. L. VANOVERBEKE, J. B. MORGAN, K. E. BELK, T. G. FIELD, J. A. SCANGA, J. D. TATUM, and G. C. SMITH. National beef quality audit – 2005: Survey of targeted cattle and carcass characteristics related to quality, quantity and value of fed steers and heifers. **Journal of Animal Science**. 86:3533–3543. doi:10.2527/jas.2007-0782. 2008.

GARRIDO, M.D.; BAÑÓN, S.; ÁLVAREZ, D. Medida del pH. Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. In: Cañeque, V.; Sañudo, C. (ed), **Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes**. Monografías INIA: Série Ganadera, p. 206-215, 2005.

GOLL, D.E.; THOMPSON, V.F.; TAYLOR, R.G.; CHRISTIANSEN, J.A. Role of the calpain system in muscle growth. **Biochimie**, v.74, p.225-237, 1992.

GRAY, J.I.; GOMAA, E.A.; BUCKLEY, D.J. Oxidative quality and shelf life of meats. **Meat Science**, Barking, v. 43, p. S111-S123, Aug. 1996.

HEDRICK, H.B.; ABERLE, E.D.; FORREST, J.C.; JUDGE, M.D.; MERKEL, R.A. **Principles of meat science**. 3rd.ed. Dubuque: Kendall/Hunt Publishing, 1994. 354p.

HERAS, A.; SCHOCH, A.; GIBIS, M.; FISCHER, A. Comparison of methods for determining malonaldehyde in dry sausages by HPLC and the classic TBA test. **European Food Research and Technology**, New York, v. 217, p. 180-184, Aug. 2003.

HERRING, H. K.; CASSENS, R. G.; RRISKEY, E. J. Further studies on bovine muscle tenderness as influenced by carcass position, sarcomere length, and fiber diameter. **Journal of Food Science**, Hoboken, NJ, v. 30, n. 6, p. 1049–1054, 1994.

HONIKEL, K.O. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. **Meat Science**, London, v.49, n. 4, p. 447-457. Mar. 1998.

HOOD, D. E. Factors affecting the rate of metmyoglobin accumulation in prepackaged beef. **Meat Science**, Oxon v. 4, p. 247, 1980.

HUFF-LONERGAN, E.J.; S.M. LONERGAN. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. **Meat Science**, Barking, v. 71, p.194-204. Sept. 2005.

HUFF-LONERGAN, E.; LONERGAN, M. New frontiers in understanding drip loss in pork: recente insights on the role of postmortem muscle biochemistry. **Journal of Animal Breeding Genetics**, v.124, p.19-26, 2007

HUFF-LONERGAN, E., MITSUHASHI, T., BEEKMAN, D.D., PARRISH, F. C., Jr., OLSON, D.G., ROBSON, R. M. Proteolysis of specific muscle structural proteins by μ -calpain at low pH and temperature is similar to degradation in postmortem bovine muscle. **Journal of Animal Science**, 74(5), 993–1008. 1996

HUFF LONERGAN, E.; ZHANG, W.; LONERGAN, S.M. Biochemistry of postmortem muscle – Lessons on mechanisms of meat tenderization. **Meat Science**, v.86, p.184-195, 2010.

HULOT, F.; OUHAYOUN, J. Muscular pH and related traits in rabbits: a review. **World Rabbit Science**, Valencia, v. 7, n.1, p. 15-36, 1999.

HUR, S. J.; PARK, G. B.; JOO, S. T. Formation of cholesterol oxidation products (COPs) in animal products. **Food Control**, v. 18, p. 939–947, 2007.

IGENE, J.O. et al. Role of triglycerides and phospholipids on development of rancidity in model meat systems during frozen storage. **Food Chemistry**, v.5, p.263-276, 1980.

IMMONEN, K., PUOLANNE, E. Variation of residual glycogen–glucose concentration at ultimate pH values below 5,75. **Meat Science**, 55(3), 279–283. 2000.

IMMONEN, K.; RUUSUNEN, M.; HISSA, K.; PUOLANNE, E. Bovine muscle glycogen concentration in relation to finishing diet, slaughter and ultimate pH. **Meat Science**, v.55, n.1. p.25-31, 2000

IMMONEN, K.; SCHAEFER, D.M.; PUOLANNE, E.; KAUFFMAN, R.G.; NORDHEIM, E.V. The relative effect of dietary energy density on repleted and resting muscle glycogen concentrations. **Meat Science**, Barking, v. 54, p. 155-162, 2000.

INSAUSTI, K.; BERIAIN, M.J.; PURROY, A.; ALBERTI, P.; LIZASO, L.; HERNANDEZ, B. Colour stability of beef from different spanish native cattle breeds stored under vacuum and modified atmosphere. **Meat Science**, Barking, v. 53, p. 241-249, Apr. 1999.

JELENIKOVA, J.; PIPEK, P.; STARUCH, L. The influence of ante-mortem treatment on relationship between pH and tenderness of beef. **Meat Science**, Barking, v.80, p.870-874, 2008.

JUDGE, M.; ABERLE, E. D.; FORREST, J. C.; HEDRICK, H. B.; MERKEL, R. A. **Principles of Meat Science**. Dubuque: Kendall/Hunt, p.351, 1989.

KANNER, J.; GERMAN, J.B.; KINSELLA, J.E. Initiation of lipid peroxidation in biological systems. **CRC Critical Review of Food Science and Nutrition**. v.25, p.317-364, 1987.

KEMP, C. M.; SENSKY, P.L.; BARDSLEY, R.G.; BUTTERY, P.J.; PARR, T. Tenderness- An enzymatic view. **Meat Science**, Barking, v. 84, n.2, p.248-256, 2010.

KIM, Y.H.; HUNT, M.C. Advance technology to improve meat color. In: Seon-Tea Joo (Ed.). **Control of Meat Quality**. Trivandrum, Kerala, India: Research Signpost, 2011, chap. 2, p.31 – 60.

KING, D. A, SHACKELFORD, S. D., RODRIGUEZ, A. B., WHEELER, T. L. Effect of time of measurement on the relationship between metmyoglobin reducing activity and oxygen consumption to instrumental measures of beef longissimus color stability. **Meat science**, v.87, p.26–32, 2011.

KOOHMARAI, M. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization process of meat. **Meat Science**, Londres, v.43, n.S, p.193-201, 1996.

KOOHMARAI, M. Effect of pH, temperature, and inhibitors on autolysis and catalytic activity of bovine skeletal muscle μ -cal-pain. **Journal of Animal Science**. 70:3071–3080. 1992.

KOOHMARAI, M. Muscle proteinases and meat aging. **Meat Science**, Barking, v. 36, p. 93-104, Jan. 1994.

KOOHMARAI, M.; GEESINK, G.H. Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. **Meat Science**, Barking, v.74, p. 34-43, Sept. 2006.

KOOHMARAI, M. The biological basis of meat tenderness and potential genetic approaches for its control and prediction. **Proceedings of the Reciprocal Meat Conference**, v. 48, p. 69–75, 1995.

KOOLMEES, P. A., F. KORTEKNIE, F.J.M. SMULDERS. Accuracy and utility of sarcomere length assessment by laser diffraction. **Food Microstr.** 5:71-76. 1986.

KOOMARAIE, M., WHEELER, T.L., SHACKELFORD, S.D. Sampling, Cooking, and Coring Effects on Warner-Bratzler Shear Force Values in Beef. **J. Anim.Sci.**, v.74, n.7, p.1553-1562, 1996.

KUBOTA, E.H., OLIVO, R., SHIMOKOMAKI, M. Maturação da carne um processo enzimático. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, p.12-15, 1999.

LAWRIE, R.A. **Avances de la Ciencia de la Carne**. 2 ed. Zasagoza, Espanha: Acribia. 310p, 1977.

LAWRIE, R.A. Ciência da Carne. Tradução de Jane Maria Rubensan. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 249-295.

LI, P.; WANG, T.; MAO, Y.; ZHANG, Y; NIU. L.; LIANG, R.; ZHU, L.; LUO, X. Effect of ultimate pH on postmortem myofibrillar protein degradation and meat quality characteristics of chinese yellow crossbreed cattle. *The Scientific Word Journal*, New York, v.2014, p.1-8, 2014.

LIMA, F.P. **Nelore: a força de uma raça**. São Paulo: Associação de criadores de Nelore do Brasil, 1989. p.129.

LOMIWES, D.; FAROUK, M.M.; WU, G.; YOUNG, O.A. The development of meat tenderness is likely to be compartmentalized by ultimate pH. **Meat Sciences**, Barking, v.96, p.646-651, Aug. 2014.

LUCHIARI FILHO, A., MOURA, A. C. Situação atual e tendências da pecuária de corte no Brasil relacionados à qualidade da carne. In: **I Simpósio Internacional sobre Produção Intensiva de Gado de Corte**. São Paulo, p. 42-44, 1997.

LUCHIARI FILHO, A. **Pecuária da carne bovina**. São Paulo: R. Vieira Gráfica & Editora, 2000. 134 p.

LUND, M.N. et al. High-oxygen packaging atmosphere influences protein oxidation and tenderness of porcine longissimus dorsi during chill storage. **Meat Science**, v.77, p.295-303, 2007.

LYNCH, M.P.; KERRY, J.P.; BUCKLEY, D.J.; FAUSTMAN, C.; MORRISSEY, P.A. Effect of dietary vitamin E supplementation on the colour and lipid stability of fresh, frozen and vacuum-packaged beef. **Meat Science**, v.52, p.95-99, 1999.

MACDOUGALL, D.B. Changes in the colour and opacity of meat. Food Chemistry, London, v. 9, p. 75-88, Jan.1981.

MAGGIONI, D.; PRADO, I.N.; ZAWADZKI, F.; VALERO, M.V.; MARQUES, J.A.; BRIDI, A.M.; MOLETTA, J.L.ABRAHÃO, J.J.S. Grupos genéticos e graus de acabamento sobre qualidade da carne de bovinos. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 391-402, 2012.

MALTIN, C.; BALCERZAK, D.; TILLEY, R.; DELDAYET M. Determination of meat quality: tenderness. **Rouett Institute of Nutrition and Health**, Aberdeen, U.K., v. 62. p.337-347, 2003.

MANCINI, R.A.; HUNT, M.C. Current research in meat color. **Meat Science**, Barking, v.71, p. 100-121, Sep. 2005.

MARINO, R., ALBENZIO, M., DELLA MALVA, A., SANTILLO, A., LOIZZO, P., SEVI, A. Proteolytic pattern of myofibrillar protein and meat tenderness as affected by breed and aging time. **Meat Science**, 95(2), 281–287. 2013

MARIUTTI, L. R. B.; NOGUEIRA, G. C.; BRAGAGNOLO, N. Solid Phase Microextraction - Gas Chromatography for the Evaluation of Secondary Lipid Oxidation Products in Chicken Patties during Long-Term Storage. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 10, p. 1849–1855, 2009.

McGEEHIN; SHERDAN, J. J.; BUTLER, F. Factors affecting the pH decline in lamb after slaughter. **Meat Science**, n. 58, p. 79-84, 2001.

McKENNA, D. R., D. L. ROEBERT, P. K. BATES, T. B. SCHMIDT, D. S. HALE, D. B. GRIFFIN, J. W. SAVELL, J. C. BROOKS, J. B. MORGAN, T. H. MONTGOMERY, K. E. BELK, G. C. SMITH. National beef quality audit – 2000: Survey of targeted cattle and carcass characteristics related to quality, quantity and value of fed steers and heifers. **Journal of Animal Science**. 80:1212–1222. 2000

MILLER, M. Dark, Firm and Dry Beef, National Cattlemen's Beef Association, 2007.

MISSIO, R.L.; BRONDANI, I.L.; ALVES FILHO, D.C.; RESTLE, J.; ARBOITTE, M.Z.; SAGABINAZZI, L.R. Características da carcaça e da carne de tourinhos terminados em confinamento, recebendo diferentes níveis de concentrado na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 7, p. 1610-1617, 2010.

MOORE, M. C., G. D. GRAY, D. S. HALE, C. R. KERTH, D. B. GRIFFIN, J. W. SAVELL, C. R. RAINES, K. E. BELK, D. R. WOERNER, J. D. TATUM, J. L. IGO, D. L. VANOVERBEKE, G. G. MAFI, T. E. LAWRENCE, R. J. DELMORE Jr., L. M. CHRISTENSEN, S. D. SHACKELFORD, D. A. KING, T. L. WHEELER, L. R. MEADOWS, M. E. O'CONNER. National beef quality audit – 2011: In-plant survey of targeted carcass characteristics related to quality, quantity, value and marketing of fed steers and heifers. **Journal of Animal Science**. 90:5143–5151. doi:10.2527/jas.2012-5550. 2012.

MORGAN, J.B.; SAVELL, J.W.; HALE, D.S.; MILLER, R.K.; GRIFFIN, D.B.; CROSS, H.R.; SHACKELFORD, S.D. National beef tenderness survey. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 69, p. 3274-3283, 1991.

MORGAN, J. B. et al. Meat tenderness and the calpain proteolytic system in longissimus muscle of young bulls and steers. **Journal of animal science**, Champaign, IL, v. 71, n. 6, p. 1471–1476, 1993.

MORRISSEY, P.A., SHEEHY, P.J.A., GALVIN, K., KERRY, J.P., BUCKLEY, D.J. Lipid stability in meat and meat products. **Meat Science**, Barking, v. 49, p. S73-S86, Jan. 1998.

MONAHAN, F.J. **Oxidation of lipids in muscle foods: Fundamental and applied concerns**. In Antioxidants in muscle foods, Decker, E.A.; Faustman, C.; Lopez-Bote, C.J.

(Eds.) Chichester: Wiley, 2000. Cap. 1, p. 3-23.

MUCHENJE, V.; DZAMA, K.; CHIMONYO, M.; STRYDOM, P. E.; HUGO, A.; RAATS, J. G. Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: A review. **Food Chemistry**, v. 112, p. 279–289, 2009.

NISHIMURA, T. et al. Changes in mechanical strength of intramuscular connective tissue during postmortem ageing of beef. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.76, n.2, p.528-32, 1998

OFFER, G.; TRINICK, J. On the mechanism of water holding in meat: The swelling and shrinking of myofibrils. **Meat Science**, Barking, v. 8, n. 4, p. 245–281, 1983.

OLIVEIRA, D. M.; LADEIRA, M. M.; CHIZZOTTI, M. L.; MACHADO NETO, O. R.; RAMOS, E. M.; GONÇALVES, T. M.; BASSI, M. S.; LANNA, D. P. D.; RIBEIRO, J. S. Fatty acid profile and qualitative characteristics of meat from zebu steers fed with different oilseeds. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 8, p. 2546–55, 2011.

OLIVEIRA, J.H.F.; MAGNABOSCO, C.U.; BORGES, A.M.S.M. **Nelore: base genética e evolução seletiva no Brasil**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2002. p.54.

OOIZUMI, T.; XIONG, Y.L. Hydroxyl radical oxidation destabilizes subfragment-1 but not the rod of myosin in chicken myofibrils. **Food Chemistry**, 106, 661–668, 2008.

OSAWA, C. C.; FELÍCIO, P. E.; GONÇALVES, L. A. G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, v XY, p.1-9, 2005.

PAGE, J.K., Wulf, D.M., Schwotzer, T.R. A survey of beef muscle color and pH. **Journal of Animal Science**. V. 79, p.678-687, 2001.

PARDI, M.C. et al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. 2.ed. rev. e ampl. Goiânia: Editora da UFG, 2001. v.1.

PARDI, M.C.; SANTOS, I.F.; SOUZA, E.R.; PARDI, H.S. **Ciência, higiene e tecnologia de carnes**. Goiânia: EDUFF; UFF, 1994. 1110 p.

PEARCE, K.L.; ROSENVOLD, K.; ANDERSEN, H.J.; HOPKINS, D.L. Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes – A review. **Meat Sciences**, Barking, v.89, p. 111-124, Oct. 2011.

PURCHAS, R. W.; AUNGSUPAKORN, R. Further investigations into the relationship between ultimate pH and tenderness for beef samples from bulls and steers. **Meat Science**, Barking, v.34, p.163-178, 1993.

PURCHAS, R. W. An assessment of the role of pH differences in determining the relative tenderness of meat from bulls and steers. **Meat Science**, Amsterdam, v. 27, n. 2, p. 129–140, 1990.

PURCHAS, R. W.; BURNHAM, D. L.; MORRIS, S. T. Effects of growth potential and growth path on tenderness of beef longissimus muscle from bulls and steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, IL, v. 80, n. 12, p. 3211–3221, 2002.

PULFORD, D. J., FRANGA VAZQUEZ, S., FROST, D. F., FRASER-SMITH, E., DOBBIE, P., ROSENVOLD, K. The intracellular distribution of small heat shock proteins in post-mortem beef is determined by ultimate pH. **Meat Science**, 79(4), 623–630. 2008

PULFORD, D.J.; DOBBIE, P.; FRAGA VAZQUEZ, S.; FRASER-SMITH, E.; FROST, D.F.; MORRIS, C.A. Variation in bull beef quality due to ultimate muscle pH is correlated to endopeptidase and small heat shock protein levels. **Meat Science**, Barking, v. 83, p. 1-9, Sept. 2009.

PUOLANNE, E.; HALONEN, M. (2010). Theoretical aspects of water holding in meat. **Meat Science**, Barking, v.86, p.151–165. Apr. 2010.

PURSLOW, P.P. Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. **Meat Science**, Barking, v. 70, p. 435-447, Jan. 2005.

POUZO, L. B.; DESCALZO, A. M.; ZARITZKY, N. E.; ROSSETTI, L.; PAVAN, E. Antioxidant status, lipid and color stability of aged beef from grazing steers supplemented with corn grain and increasing levels of flaxseed. **Meat Science**, v. 111, p. 1–8, 2016.

RENERRE, M. ; LABAS, R. Biochemical factors influencing metmyoglobin formation in beef muscles. **Meat Science**, Oxon, v.19, p.151-165, 1987.

ROÇA, R.O. **Tecnologia da carne e produtos derivados**. Botucatu: UNESP, Faculdade de Ciências Agronômicas, 2000. 202 p.

RODAS-GONZÁLEZ, A.; NARVÁEZ-BRAVO, C.; BRASHEARS, M. M.; ROGERS, H. B.; TEDFORD, J. L.; CLARK, G. O.; BROOKS, J. C.; JOHNSON, B. J.; RATHMANN, R. J.; MILLER, M. F. Evaluation of the storage life of vacuum packaged Australian beef. **Meat Science**, v. 88, n. 1, p. 128–138, 2011.

ROSA, A.F. Estudo proteômico do efeito da atmosfera modificada na estabilidade da cor e na vida útil da carne suína acondicionada em embalagens de transporte tipo masterpack sob refrigeração. 2009. 126 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009.

RUBENSAM, J.M.; FELICIO, P.E; TERMIGNONI, C. Influência do genótipo *Bos Indicus* na atividade da calpastatina e na textura da carne de novilhos abatidos no Sul do Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n.4, p.405-409, 1998.

SANTÉ-LHOUTELLIER, V.; ENGEL, E.; GATELLIER, PH. Assessment of the influence of diet on lamb meat oxidation. **Food Chemistry**, v.109, p.573–579, 2008.

SANTIAGO, A.A. Gado Nelore: 100 anos de seleção. São Paulo: Editora dos Criadores, 1987. p.594.

SANTIAGO, A.A. **O Zebu na Índia, no Brasil e no mundo**. Campinas: Instituto de Ensino Agrícola, 1985. p. 744.

SHACKELFORD, S. D. et al. An evaluation of tenderness of the longissimus muscle of angus by hereford versus brahman crossbred heifers. **Journal of Animal Science**,

Savoy, v. 69, p. 171-177, 1991.

SIEDEMAN, S.C.; CROSS, H.R.; SMITH, G.C.; DURLAND, P.R. Factors associated with fresh meat color: a review. **Journal of Food Quality**, Westport, v.6, n.3, p. 211-237. March. 1989.

SIES, H. **Oxidative stress: Introductory remarks**. Orlando, FL: Academic Press. In: Oxidative Stress, Sies, H. (ed.), p. 1-8, 1986.

SILVA, J.A.; PATARATA, L.; MARTINS, C. Influence of ultimate pH on bovine meat tenderness during ageing. **Meat Science**, Barking, v.52, p.453-459, 1999.

SMITH, G. C.; CULP, G. R.; CARPENTER, Z. L. Postmortem Aging of Beef Carcasses. **Journal of Food Science**, Hoboken, NJ, v. 43, n. 3, p. 823–826, 1978.

SORENSEN G.; JORGENSEN S.S. A critical examination of some experimental variables in the 2-thiobarbituric acid (TBA) test for lipid oxidation in meat products. **Z Lebensm Unters Forsch**, v. 202, n. 3, p. 205–210, 1996.

SZCZESNIAK, A.S. Sensory texture evaluation methodology. In: Anual Reciprocal Meat Conference, 39, Chicago. **Proceedings**. Chicago, p.86, 1986.

TUBINO, D.F. **Manual de Planejamento e Controle da Produção**. São Paulo – SP, 1997, Atlas. P.217.

United States Department of Agriculture USDA. **Livestock and poultry: world markets and trade**. 2015. Disponível em:

<http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.PDF>. Acesso em: 18 Março de 2016.

VATANSEVER, L.; KURT, E.; ENSER, M.; NUTE, G. R.; SCOLLAN, N. D.; WOOD, J. D.; RICHARDSON, R. I. Shelf life and eating quality of beef from cattle of different breeds given diets differing in n-3 polyunsaturated fatty acid composition. **Animal Science**, v. 71, p. 471–482, 2000.

VAZ, F.N.; RESTLE, J. Aspectos qualitativos da carcaça e da carne de machos Braford superprecoces, desmamados aos 72 ou 210 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 5, p. 2078-2087. 2002.

VAZ, F.N.; RESTLE, J. Aspectos qualitativos de carcaça e de carne de machos hereford, inteiro ou castrado, abatidos aos quatorze meses. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v. 29, n.6, p. 1894-1901, 2000.

VERGARA, H. et al. Conservation of *Cervus elaphos* meat in modified atmospheres. **Meat Science**, Londres, v.65, n. 2, p.779-83, 2003.

VILJOEN, H.F.; DE KOCH, H.L.; WEBB, E.C. Consumer acceptability of dark, firm and dry (DFD) and normal pH beef steaks. **Meat Science**, v.61, p.181-185, 2002.

VYNCKE, W. Evaluation of the Direct Thiobarbituric Acid Extraction Method for Determining Oxidative Rancidity in Mackerel (*Scomber scombrus* L.). **Fette, Seifen, Anstrichmittel**, v. 77, n. 6, p. 239–240, 1975.

WARRIS, P.D. **Meat Science : An introductory text**. New York : CABI Publishing, USA. P.309, 2000.

WATANABE, A.; DALEY, C.C.; DEVINE, C. The effects of the ultimate pH of meat on tenderness changes during ageing. **Meat Science**, Barking, v.42, p. 67-78, Jan. 1996.

WHEELER, T. L.; KOOHMARAIE, M. The extent of proteolysis is independent of sarcomere length in lamb longissimus and psoas major. **Journal of Animal Science**, Champaign, IL, v. 77, n. 9, p. 2444–2451, 1999.

WHIPPLE, G. et al. Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in bos taurus and bos /nd/cus cattle. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 68, p. 2716-2728, 1990

WU, G.; FAROUK, M.M.; CLERENS, S.; ROSENVOLD, K. Effect of beef ultimate pH and large structural protein changes with aging on meat tenderness. **Meat Science**, Barking, v. 98, p. 637-646, Jun., 2014.

WULF, D.M.; EMMETT, R.S.; LEHESKA, J.M.; MOELLER, S.J. Relationship among glycolysis potential, dark cutting (dark, firm, and dry) beef, and cooked beef palatability. **Journal of Animal Science**, Albany, v.80, p.1895-1903, 2002.

YANCEY, J.W.S.; WHARTON, M.D.; APPLE, J.K. Cookery method and end-point temperature can affect the Warner-Bratzler shear force, cooking loss and internal cooked color of beef longissimus steaks. **Meat Science**, Barking, v. 88, p. 1-7, May. 2011.

YOUNG, O.A.; WEST, J.; HART, A.L.; VAN OTTERDISK, F.F.H. A method for the early determination of meat ultimate pH. **Meat Science**, Barking, v. 66, p. 493-498, Feb. 2004.

YU, L.P.; LEE, Y.B. Effect of postmortem pH and temperature on bovine muscle structure and meat tenderness. *Journal of Food Sciences*, Chicago, v.51, p.774-780, 1986.

YU, L. H.; LEE, E. S.; JEONG, J. Y.; PAIK, H. D.; CHOI, J. H.; KIM, C. J. Effects of thawing temperature on the physicochemical properties of pre-rigor frozen chicken breast and leg muscles. **Meat Science**, v. 71, n. 2, p. 375–82, 2005.

ZANARDI, E.; DORIGONI, V.; BADIANI, A.; CHIZZOLINI, R. Lipid and colour stability of Milano-type sausages: effect of packing conditions. **Meat Science**, Barking, v. 61, p. 7-14, May 2002.

Anexos

Anexo 1 - Extração dos Lípidos Totais da Carne

Procedimentos

- Pesar entre 3,00 e 3,50 gramas de carne fresca completamente moída em um béquer de 100 mL (anotar o peso da amostra)
- Adicionar ao béquer exatamente:
 - 10 mL de clorofórmio
 - 20 mL de metanol
 - 8 mL de água destilada
- Tampar hermeticamente e colocar os béqueres em um agitador rotativo, pelo menos 250 rpm por 30 minutos.
- Em seguida adicionar exatamente:
 - 10 mL de clorofórmio
 - 10 mL de solução de sulfato de sódio 1,5%
- Tampar hermeticamente e agitar por mais 2 minutos
- Deixar separar as camadas naturalmente ou centrifugar a 1000 rpm por 2 minutos para acelerar a separação (2 fases; inferior = clorofórmio + lipídeos)
- Retirar cerca de 15 mL da camada inferior e colocar em um tubo de ensaio (descartar a camada superior)
- Adicionar 1 g de sulfato de sódio anidro, tampar o tubo e agitar (remove traços de água da pipetagem)
- Filtrar a solução através de um funil com papel filtro Whatman nº 1 (a solução deve ser límpida; clorofórmio + lipídeos)
- Medir exatamente 5 mL do filtrado com uma pipeta volumétrica
- Transferir os 5 mL para um béquer previamente pesado (anotar o peso do béquer)
- Colocar o béquer em uma estufa a 100 °C até evaporar o solvente (aproximadamente 30 minutos)
- Resfriar em dessecador
- Pesar o béquer após retirar do dessecador (anotar o peso)

Determinação da Quantidade de Lípidos

$$\% \text{ Lipídeos} = \frac{(\text{BI} - \text{BF}) \times 4}{\text{PA}} \times 100$$

BI = Peso do béquer inicial (g)

BF = Peso do béquer final (g)

PA = Peso da amostra (g)

4 = Correção do clorofórmio

100 = Transformação para porcentagem

Solução de Sulfato de Sódio 1.5%

- Sulfato de sódio 1,5%
 - Pesar exactamente 3,75 g de sulfato de sódio
 - Completar com água destilada até 250 mL

Anexo 2 - Comprimento do Sarcómero

Preparação do músculo para a difracção a laser

- Retirar, em triplicata, pequenos pedaços (3 x 3 x 2 cm) do centro do músculo fresco com as fibras correndo longitudinalmente.
- Colocar os pedaços em recipientes (vials)
- Adicionar solução de glutaraldeído 5% e fixar por 4 horas a 4 °C
- Após, retirar a solução de glutaraldeído e colocar a solução de 0,2 M de sacarose. Fixar overnight a 4°C.
- Obs: As amostras podem ser estocadas a 4° C por até 7 dias nessa solução

Determinação do Comprimento de Sarcomero

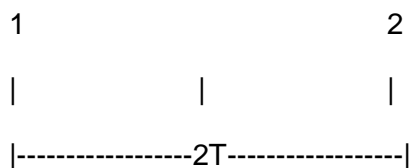
$$\mu = \frac{0,6328 \times D \times \sqrt{\left(\frac{T^2}{D}\right) + 1}}{T}$$

D = Distância (mm) da amostra até a folha onde será desenhada a imagem (preferencialmente 100 mm)

T = Espaço (mm) entre as bandas de difração **

0,6328 = Comprimento de onda do laser ($632,8 \times 10^{-3}$)

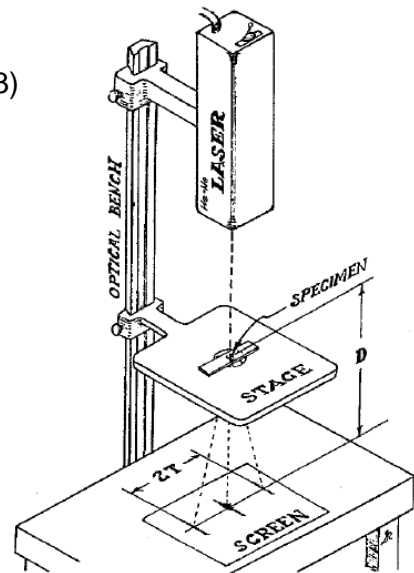
** A difração será projetada na folha desse modo



A distância entre as bandas 1 e 2 é igual a 2T na fórmula.

T = ½ da distância entre 1 e 2

Medir de 1 a 2 em mm e então divide por 2 para obter T.



Procedimento

- Com o auxílio de pinças separar 2 conjunto de fibras longitudinais de cada triplicata (quanto mais finas melhor para a difração)
- Montar uma lâmina de microscopia contendo 6 fibras (2 de cada triplicata)
- Colocar sob o laser e anotar pelo menos 6 comprimentos de sarcômero de cada fibra
- Portanto, serão 2 amostras de cada duplicata que darão 6 fibras, lendo-se 6 comprimentos de sarcômero de cada fibra, num total de 36 medidas.

Soluções

1. 0,1 M NaHPO ₄ tampão em pH 7,2	1 litro	2 litros
○ Na ₂ HPO ₄ (mw 141,96)	10,18 g	20,36 g
○ NaH ₂ PO ₄ (mw 137,99)	3,91 g	7,82 g

Dissolver em ddH₂O, ajustar o pH em 7,2 e preencher até o volume com ddH₂O.

Estocar a 4 °C.

2. Glutaraldeído em 0,1 M NaHPO₄ tampão em pH 7,2

- Glutaraldeído (25%) 200 mL/litro

Colocar 200 mL de glutaraldeído/litro e preencher até 1 litro com 0,1 M NaHPO₄ tampão. Estocar a 4 °C.

3. 0,2 M Sacarose em 0,1 M NaHPO₄ tampão em pH 7,2

- Sacarose 68,46 g por litro

Dissolver e preencher até o volume com 0,1 M NaHPO₄ tampão. Estocar a 4°C.

Anexo 3 - Oxidação de Lípidos da Carne

Procedimentos

- Pesar 5 gramas de amostra em um tubo tipo "Falcon" de 50 mL;
- Adicionar 15 mL de ácido tricloroacético (TCA) e homogeneizar no Ultra Turrax por 60 segundos na velocidade máxima;
- Filtrar a amostra que foi homogeneizada utilizando papel filtro Whatman nº1;
- Pipetar 3 mL do filtrado para um tubo de ensaio de vidro com tampa de rosca (fazer em duplicata);
- Adicionar 3 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) em todos os tubos;
- Para o **Branco**, pipetar 3 mL de TCA e 3 mL de TBA;
- Agitar os tubos no vórtex;
- Desrosquear levemente as tampas dos tubos;
- Incubar os tubos em banho-maria a 100 °C por 40 minutos (a tampa do tubo de ensaio não deve ficar totalmente rosqueada);
- Resfriar em gelo por 2 minutos para cessar reação;
- Fechar completamente os tubos e agitar os tubos no vórtex para remover as bolhas;
- Desrosquear posteriormente para a eliminação de gás formado
- Zerar o espectrofotômetro com água MilliQ;
- Fazer leitura das absorbâncias das amostras e do branco a 532 nm e 600 nm em placas Costar ref.3590

Reagentes

1. Solução de Ácido tricloroacético 7,5% + Propil galato (PG) 0,1% + Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 0,1%

Para 1L de solução pesar:

- 1 g de Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA);
- 1 g propyl gallate (PG);
- 75 g Trichloroacetic acid (TCA);

➔ Dissolver o ácido tricloroacético em aproximadamente 900 mL de água MilliQ, adicionar o EDTA e o PG, homogeneizar a 50 °C. Transferir para um balão volumétrico de 1L e completar o volume com água MilliQ.

2. Solução de ácido tiobarbitúrico 0,02M

Para 250 mL de solução pesar:

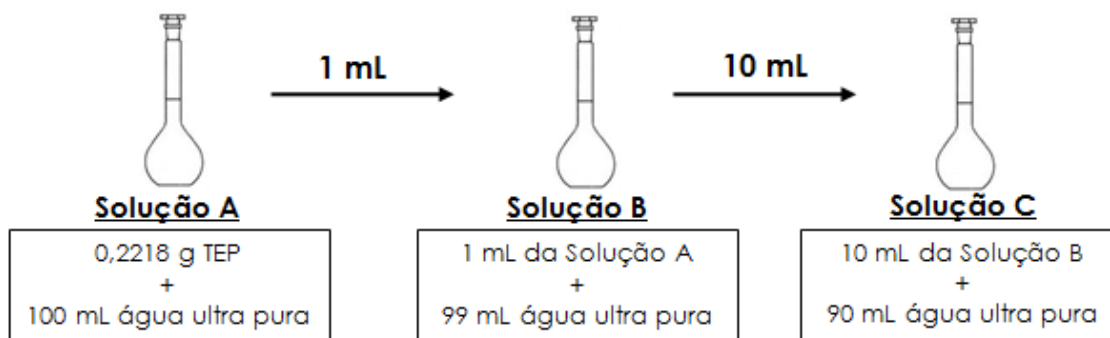
- 0,75 g de 2-Thiobarbituric acid;

➔ Dissolver o TBA em aproximadamente 90 mL de água MilliQ, homogeneizar a 60 °C. Transferir para um balão volumétrico correspondente e completar o volume com água MilliQ.

Curva Padrão

1. Preparo do TEP

- Pesar direto no balão de 100 mL: aproximadamente 0,2218 g de TEP (1,1,3,3, Tetraethoxy-propane) em balança analítica;
- Adicionar um pouco de água mili-Q e agitar um pouco, completar com água mili-Q para 100 mL (Diluição A).



- Em balão volumétrico de 100 mL, realizar as diluições conforme esquema acima;
- Transferir do balão volumétrico contendo a solução C, os seguintes volumes para tubos de ensaio com rosca, conforme tabela abaixo:

Tubos	TCA 7,5%	Solução C TEP	TBA 0,02M
Branco	3,0 mL	-	3,0 mL
1	2,94 mL	0,06 mL (60 µL)	3,0 mL
2	2,82 mL	0,18 mL (180 µL)	3,0 mL
3	2,70 mL	0,30 mL (300 µL)	3,0 mL
4	2,40 mL	0,60 mL (600 µL)	3,0 mL
5	2,10 mL	0,90 mL (900 µL)	3,0 mL
6	1,80 mL	1,20 mL	3,0 mL
7	1,20 mL	1,80 mL	3,0 mL
8	-	3,0 mL	3,0 mL

- Agitar os tubos no vórtex;
- Incubar os tubos em banho-maria a 100 °C por 40 minutos (a tampa do tubo de ensaio não deve ficar totalmente rosqueada);
- Resfriar em gelo por 5 minutos;
- Agitar os tubos no vórtex para remover as bolhas;
- Zerar o espectrofotômetro com o **Branco**;
- Fazer leitura das absorbâncias das amostras e do branco a 532 nm e 600 nm.

Cálculo:

Para os cálculos deve-se fazer a curva padrão, onde a concentração e a absorbância* são plotados no eixo x e y, respectivamente, determinando a equação da reta de uma regressão linear, a partir da qual se obtém a concentração da amostra. Uma vez que as amostras são lidas em 2 comprimentos de onda, obtém-se os valores de Abs através da seguinte fórmula:

$$\text{Abs amostra} = \text{Abs}_{532} - \text{Abs}_{600} - (\text{Abs branco}_{532} - \text{Abs branco}_{600})$$

Obtendo-se a concentração das amostras, utilizar os seguintes cálculos:

$$TBARS (\mu\text{gMDA/ Kg de carne}) = \frac{C \times Ve(\text{mL}) \times V_{TCA}(\text{mL})}{Va(\text{mL}) \times p(\text{Kg})}$$

Onde:

C = concentração da amostra, obtida através da curva padrão ($\mu\text{g/mL}$)

V_e = Volume total do ensaio (mL) \rightarrow (6 mL)

V_{TCA} = Volume de TCA adicionado na amostra para homogeneização (mL) \rightarrow (15 mL)

V_a = Volume da amostra no ensaio (mL) \rightarrow (3 mL)

p = peso da amostra (Kg) \rightarrow (0,005 Kg)

Obs: Para expressar o resultado em mg de MDA/Kg de carne, dividir por 1000